

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 014**

51 Int. Cl.:

A61K 47/50 (2007.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.11.2012 PCT/IB2012/056224**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.05.2013 WO13072813**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.11.2012 E 12787111 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.11.2017 EP 2780039**

54 Título: **Péptidos citotóxicos y conjugados de fármaco anticuerpo de los mismos**

30 Prioridad:

**17.11.2011 US 201161561255 P
27.07.2012 US 201261676423 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.03.2018

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (100.0%)
235 East 42nd Street
New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**DOROSKI, MATTHEW DAVID;
MADERNA, ANDREAS;
O'DONNELL, CHRISTOPHER JOHN;
SUBRAMANYAM, CHAKRAPANI;
VETELINO, BETH COOPER;
DUSHIN, RUSSELL GEORGE;
STROP, PAVEL y
GRAZIANI, EDMUND, IDRIS**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones:

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

ES 2 657 014 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

Péptidos citotóxicos y conjugados de fármaco anticuerpo de los mismos

Campo de la invención

5 La presente invención se dirige a nuevos compuestos a base de péptidos útiles como cargas útiles en los conjugados fármaco-anticuerpo (ADC) y compuestos útiles de carga útil-engarce junto con los ADC. La presente invención se refiere además a composiciones que incluyen las cargas útiles anteriormente mencionadas, a cargas útiles-engarces y ADC y a procedimientos para usar estas cargas útiles, cargas útiles-engarces y ADC, para tratar afecciones patológicas incluyendo cáncer.

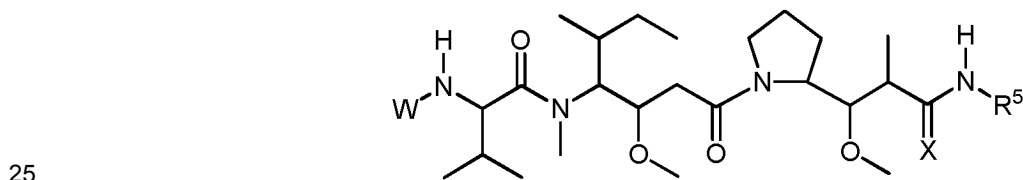
Antecedentes

10 La conjugación de fármacos a anticuerpos, bien directamente o bien a través de engarces, implica una consideración de una diversidad de factores, incluyendo la identidad y la localización del grupo químico para la conjugación del fármaco, el mecanismo de liberación del fármaco, los elementos estructurales que proporcionan la liberación del fármaco y la modificación estructural al fármaco libre liberado. Además, si el fármaco ha de liberarse después de la internalización de los anticuerpos, el mecanismo de liberación del fármaco debe ser consonante con el tráfico intracelular del conjugado.

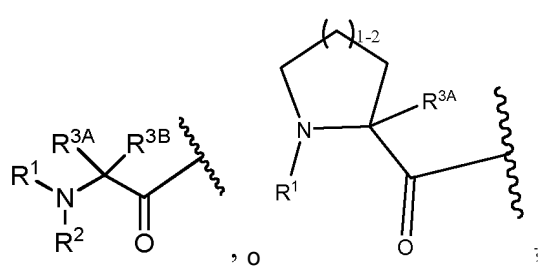
15 Aunque se ha intentado un número de diferentes clases de fármacos para el transporte a través de los anticuerpos, solamente unas pocas clases de fármacos han demostrado ser efectivos como conjugados de fármaco anticuerpo, teniendo un perfil de toxicidad adecuado. Una de dichas clases son las auristatinas, derivados del producto natural dolastatina 10. Las auristatinas representativas incluyen (N-metilvalina-valina-dolaisoleucin-dolaproin-norefedrina) y (N-metilvalina-valina-dolaisoleucin-dolaproin-fenilalanina). Sin embargo, se mantiene una necesidad de auristatinas adicionales con propiedades mejoradas.

Sumario

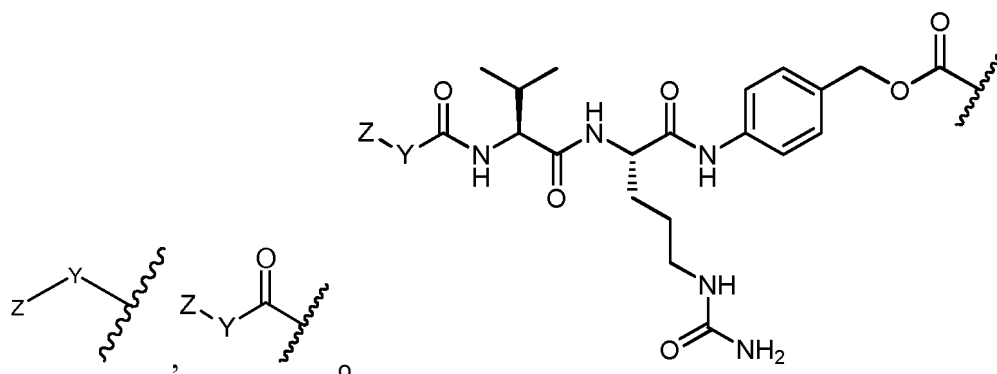
La presente invención se refiere a pentapéptidos citotóxicos y conjugados de anticuerpo fármaco de los mismos representados por la fórmula:



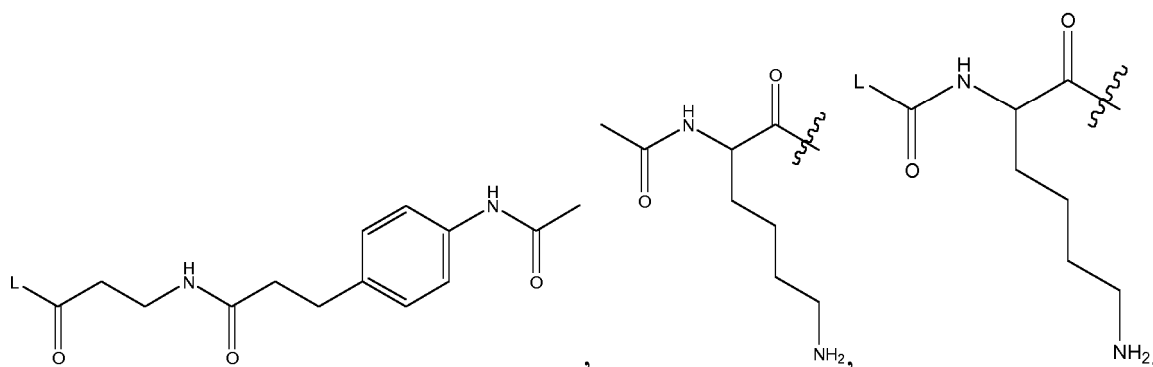
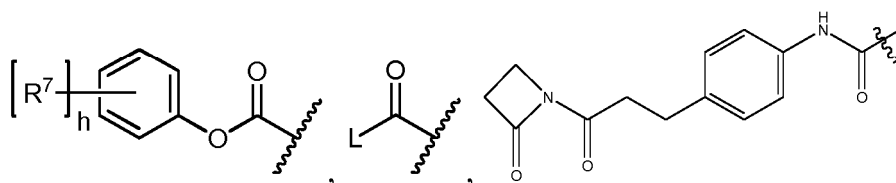
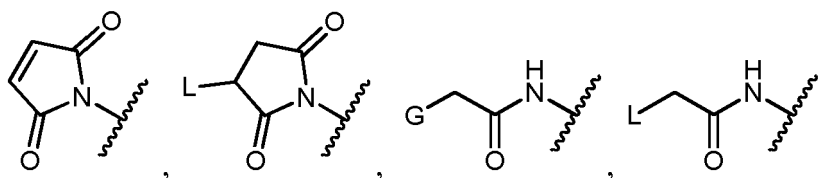
o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente, W es



R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈, o R¹ es un engarce o anticuerpo de engarce, tal como



Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-; Z es



5

-NH₂ o -NHL;

G es halógeno, -OH, -SH o -S-alquilo C₁-C₆;

L es un anticuerpo;

R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

10

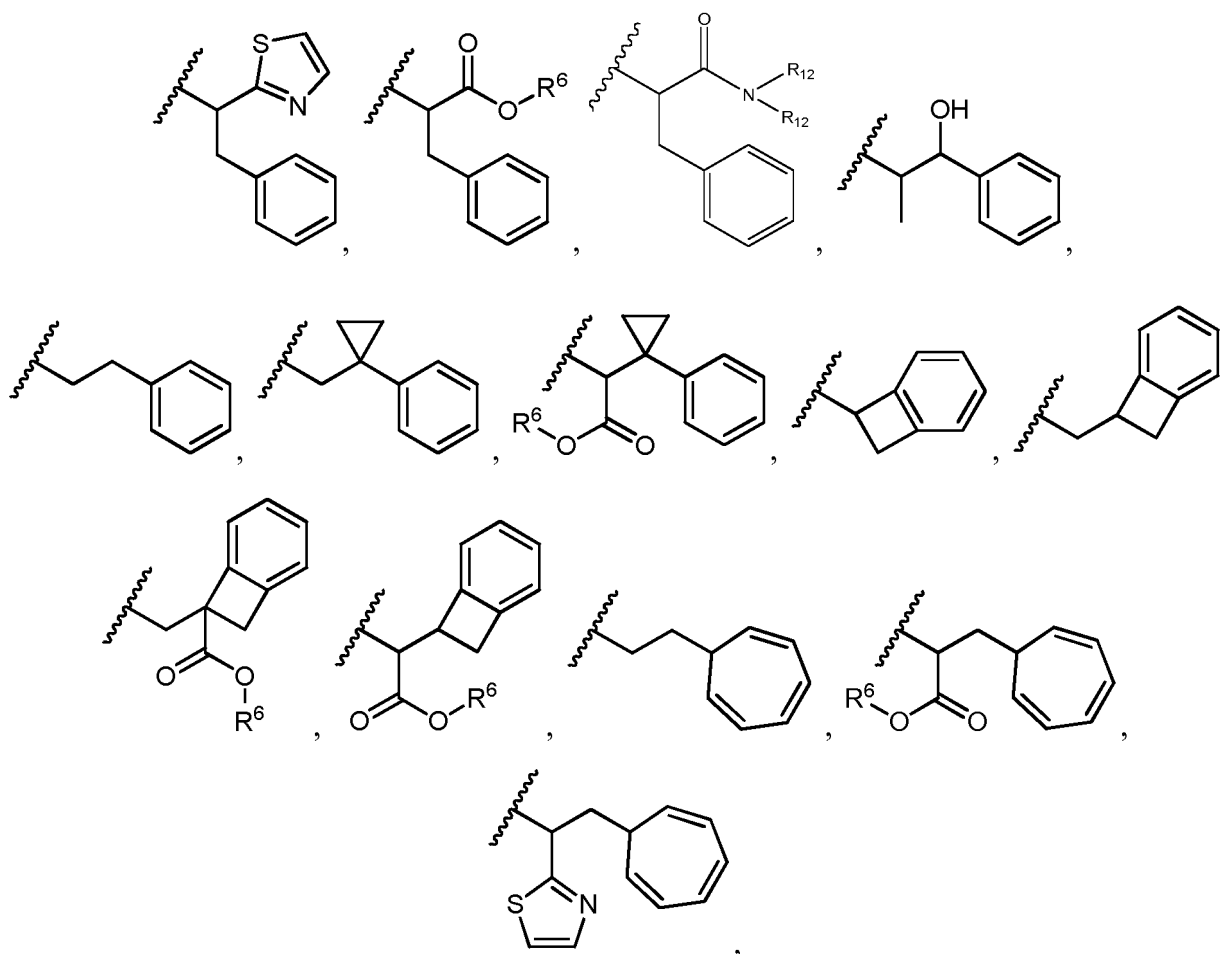
R^{3A} y R^{3B} se definen como cualquiera de los siguientes:

(i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y

R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o

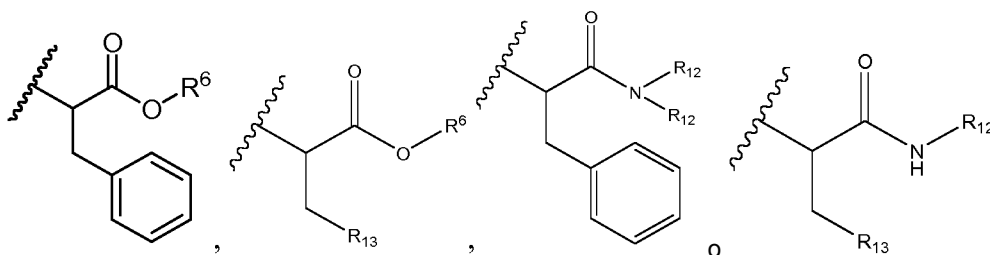
(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileo C₂-C₈, dicho alquileo C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileo C₁-C₈, dicho heteroalquileo C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado; R⁵ es

15



5 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)R' -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

10 o R⁵ es



15 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

20 R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;

R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;

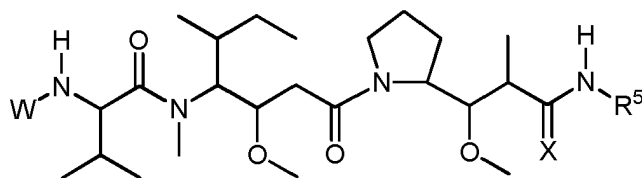
R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y

R⁷ es F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;

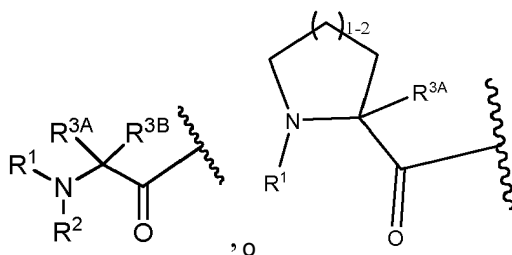
h es 1, 2, 3, 4 o 5; y

25 X es O

La presente invención se refiere a pentapéptidos citotóxicos y conjugados de anticuerpo fármaco de los mismos representados por la fórmula:



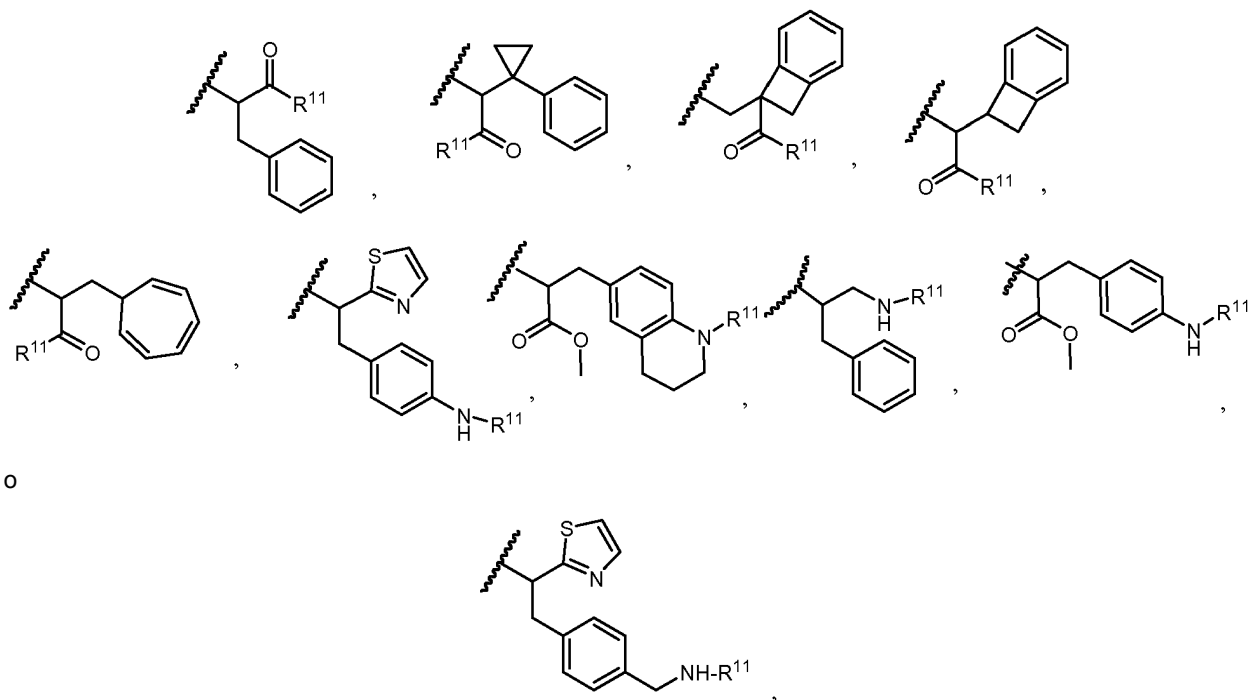
5 o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente, W es



R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R^{3A} y R^{3B} se definen como cualquiera de los siguientes:

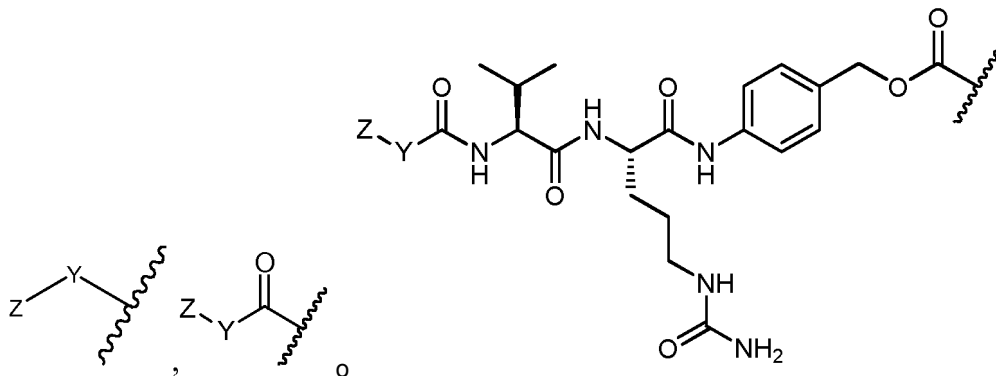
- 10 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈, C₁ o halógeno; y
 R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o hidrógeno; o
 (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileno C₂-C₈, dicho alquileno C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileno C₁-C₈, dicho heteroalquileno C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

15 R⁵ es

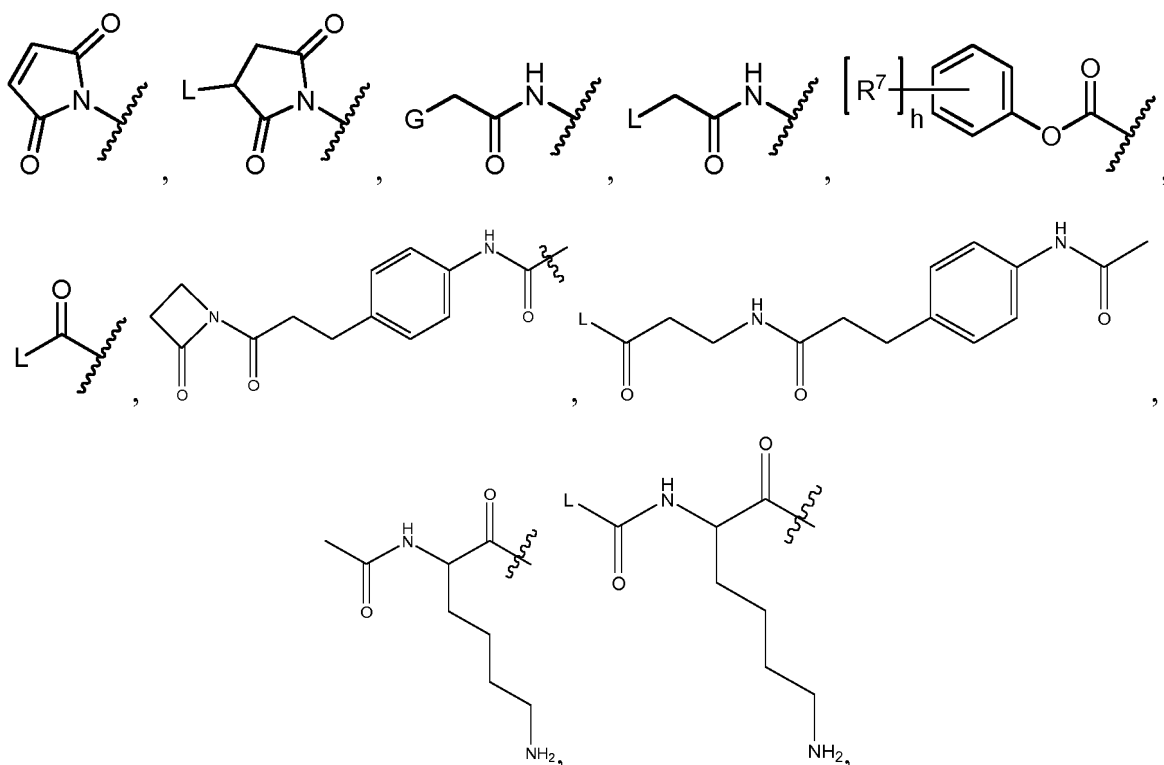


20 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido;

R¹¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈ o R¹¹ es un engarce o un anticuerpo de engarce, tal como



5 Y es alquilenos C₂-C₂₀ o heteroalquilenos C₂-C₂₀; carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquilen C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquilen C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquilen C₁-C₁₀-; Z es



-NH₂ o -NHL;

- 10 G es halógeno, -OH, -SH o -S-alquilo C₁-C₆;
 L es un anticuerpo;
 R⁷ es F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;
 h es 1, 2, 3, 4 o 5; y
 X es O.

15 Otro aspecto de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad eficaz de uno cualquiera de los compuestos anteriormente mencionados y/o uno cualquiera de los conjugados fármaco anticuerpo anteriormente mencionados y un transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 Otro aspecto de la invención se refiere a los compuestos anteriormente mencionados y/o uno cualquiera de los conjugados fármaco anticuerpo anteriormente mencionados para su uso en el tratamiento de cáncer administrando a un paciente en necesidad de la misma una cantidad de dicho compuesto y/o conjugado.

Otro aspecto de la invención se refiere a los compuestos anteriormente mencionados y/o uno cualquiera de los conjugados fármaco anticuerpo anteriormente mencionados para su uso en el tratamiento de cáncer en el que dicho

cáncer incluye un tumor, metástasis u otra enfermedad o trastorno caracterizados por el crecimiento celular descontrolado en el que dicho cáncer se selecciona del grupo que consiste en carcinomas de la vejiga, mama, cuello de útero, colon, gliomas, endometrio, riñón, pulmón, esófago, ovario, próstata, páncreas, melanoma, estómago y testículos.

5 **Breve descripción de las figuras**

La **Figura 1** representa un gráfico de la actividad antitumoral de cuatro conjugados (cada uno administrado a 1 mg/kg, Q4dx4) representado como volumen tumoral en el tiempo.

10 La **Figura 2** representa un gráfico de la actividad antitumoral de seis conjugados (cada uno administrado a 1 mg/kg, Q4dx4) representado como volumen tumoral tratado con fármaco/volumen tumoral tratado con vehículo en el tiempo.

La **Figura 3** representa los resultados del ensayo de H(C)-#D54 y H(C)-vcMMAE a 1 mg/kg s

15 Las **figuras 4A, 4B y 4C** representan [A] los resultados del ensayo de H(C)-#D54 y H(K)-MCC-DM1 en un modelo de detección *in vivo* de xenoinjerto de ratón MDA-MB-361-DYT2; [B] los resultados del ensayo de H(C)-vcMMAE y H(C)-mcMMAF en un modelo de detección *in vivo* de xenoinjerto de ratón MDA-MB-361-DYT2; y [C] una comparación de T/C calculado para los cuatro conjugados. Los ratones se trataron con q4dx4, empezando el día 1.

20 Las **figuras 5A, 5B, 5C, 5D, 5E y 5F** representan los resultados de respuesta a dosis del ensayo de [A] H(C)-#D54, [B] H(C)-vcMMAE, [C] H(C)-mcMMAF y [D] H(K)-MCC-DM1 en un modelo *in vivo* de xenoinjerto de ratón N87; [E] una comparación de H(C)-#D54 y H(C)-vcMMAE; y [F] una comparación de T/C calculado para los cuatro conjugados. Los ratones se trataron con q4dx4, empezando el día 1.

La **Figura 6** representa los resultados de respuesta a dosis del ensayo de H(C)-#A115 a 1 mpk, 3 mpk y 10 mpk, en un modelo *in vivo* de xenoinjerto de ratón N87. Los ratones se trataron con q4dx4, empezando el día 1.

25 La **Figura 7** muestra datos que comparan el anticuerpo hu08 humanizado conjugado a vc-0101 o mc-3377, ensayados en un modelo *in vivo* de xenoinjerto con células PC3MM2, una línea celular de cáncer de próstata humano que expresa el receptor IL-13R α 2.

Las **Figuras 8A a E** muestran [A] la efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5mg/kg en xenoinjertos de pulmón HCC2429; [B y C] la efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5mg/kg en xenoinjertos de mama MDA-MB-468; [D y E] la efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5mg/kg en xenoinjertos gástricos N87.

30 **Descripción detallada**

35 La presente invención se dirige a pentapéptidos citotóxicos, a conjugados de fármaco anticuerpo que comprenden dichos pentapéptidos citotóxicos y a procedimientos para el uso de los mismos para tratar cáncer y otras afecciones patológicas. La invención se refiere también a procedimientos para el uso de dichos compuestos y conjugados *in vitro*, *in situ* e *in vivo* para la detección, el diagnóstico o el tratamiento de células de mamíferos, o afecciones patológicas asociadas.

Definiciones y abreviaturas

40 Salvo que se indique lo contrario, pueden usarse los siguientes términos y frases en el presente documento y se destinan a tener los siguientes significados. Cuando se usan marcas comerciales en el presente documento, la marca comercial incluye la formulación del producto, el fármaco genérico y el principio o principios farmacéuticos activos del producto de la marca comercial, salvo que se indique lo contrario por contexto.

45 El término "anticuerpo" (o "Ac") en el presente documento en el sentido más amplio y específicamente abarca anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos monoespecíficos, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpo que exhiben la actividad biológica deseada. Un anticuerpo intacto tiene principalmente dos regiones: una región variable y una región constante. La región variable se une a e interacciona con un antígeno diana. La región variable incluye una región determinante de la complementariedad (CDR) que reconoce y se une a un sitio de unión específico en un antígeno particular. La región constante puede reconocerse por e interaccionar con el sistema inmune (véase, por ejemplo, Janeway y col., 2001, *Immuno. Biology*, 5^a Ed., Garland Publishing, Nueva York). Un anticuerpo puede ser de cualquier tipo o clase (por ejemplo, IgG, IgE, IgM, IgD e IgA) o subclase (por ejemplo, IgG, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2). El anticuerpo puede derivar de cualquier especie adecuada. En algunas realizaciones, el anticuerpo es de origen humano o murino. Un anticuerpo puede ser, por ejemplo, humano, humanizado o quimérico.

Las expresiones "se une específicamente" y "unión específica" se refieren a la unión de un anticuerpo a un antígeno predeterminado. Típicamente, el anticuerpo se une con una afinidad de al menos aproximadamente 1×10^7 M⁻¹ y se une al antígeno predeterminado con una afinidad que es al menos dos veces mayor que su afinidad por la unión a

un antígeno no específico (por ejemplo, BSA, caseína) distinto del antígeno predeterminado o un antígeno estrechamente relacionado.

La expresión "anticuerpo monoclonal" como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogéneos, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades minoritarias. Los anticuerpos monoclonales son altamente específicos, dirigiéndose contra un único sitio antigénico. El modificador "monoclonal" indica el carácter del anticuerpo obteniéndose a partir de una población sustancialmente homogénea de anticuerpos, y no ha de construirse requiriendo la producción del anticuerpo por ningún procedimiento particular.

La expresión "anticuerpos monoclonales" incluye específicamente anticuerpos "quiméricos" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica a, u homóloga a la secuencia correspondiente de anticuerpos derivados de una especie particular o que pertenecen a una clase o subclase de anticuerpo particular, mientras que lo que queda de la cadena o cadenas es idéntico a, u homólogo a las secuencias correspondientes de anticuerpos derivados de otras especies o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpos, así como fragmentos de tales anticuerpos, siempre que exhiban la actividad biológica deseada.

Como se usa en el presente documento, "H(C)-" se refiere a trastuzumab (marca comercial HERCEPTIN®) que es un anticuerpo monoclonal que interfiere con el receptor HER2/neu, unido a través de una de sus cisteínas al compuesto de la invención. Como se usa en el presente documento, "H(K)-" se refiere a trastuzumab que es un anticuerpo monoclonal que interfiere con el receptor HER2/neu, unido a través de una de sus lisinas al compuesto de la invención.

Un "anticuerpo intacto" es uno que comprende una región variable de unión a antígeno así como un dominio constante de cadena ligera (C_L) y dominios constantes de cadena pesada, C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} y C_{H4} , según sea apropiado para la clase de anticuerpo. Los dominios constantes pueden ser dominios constantes de secuencia nativa (por ejemplo, dominios constantes de secuencia nativa humana) o variantes de secuencias de aminoácidos de los mismos.

Un anticuerpo intacto puede tener una o más "funciones efectoras", que se refiere a aquellas actividades biológicas atribuibles a la región Fc (por ejemplo, una región Fc de secuencia nativa o una región Fc variante de secuencia de aminoácidos) de un anticuerpo. Los ejemplos de las funciones efectoras de anticuerpos incluyen la citotoxicidad dependiente de complemento, la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC) y fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpo.

Un "fragmento de anticuerpo" comprende una porción de un anticuerpo intacto, que comprende preferentemente la región de unión a antígeno o la variable del mismo. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', $F(ab')_2$ y Fv, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, anticuerpos lineales, molécula de anticuerpos de cadena simple, scFv, scFv-Fc, fragmentos de anticuerpo multiespecíficos formados a partir de fragmento o fragmentos de anticuerpo, un fragmento o fragmentos producidos por una biblioteca de expresión de Fab o unos fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores que se unen inmuno específicamente a un antígeno diana (por ejemplo, un antígeno de célula cancerosa, un antígeno vírico o un antígeno microbiano).

El término "variable" en el contexto de un anticuerpo se refiere a ciertas porciones de los dominios variables del anticuerpo que difieren extensamente en secuencia y se usan en la unión y la especificidad de cada anticuerpo particular para su antígeno particular. Esta variabilidad se concentra en tres segmentos denominados "regiones hipervariables" en los dominios variables de la cadena ligera y la cadena pesada. Las porciones más altamente conservadas de dominios variables se denominan las regiones marco (FR, por sus siglas en inglés). Los dominios variables de las cadenas pesadas y ligeras nativas comprenden cada una cuatro FR conectadas por tres regiones hipervariables.

La frase "región hipervariable" cuando se usa en el presente documento se refiere a los restos de aminoácidos de un anticuerpo que son responsables de la unión a antígeno. La región hipervariable comprende generalmente restos de aminoácidos de una "región determinante de la complementariedad" o "CDR" (por ejemplo, los restos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (L3) en el dominio variable de cadena pesada; Kabat y col. (Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)) y/o aquellos restos de un "bucle hipervariable" (por ejemplo, restos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (142) y 96-101 (H3) en el dominio variable de cadena pesada; Chothia y Lesk, 1987, J. Mol. Biol. 196:901-917). Los restos FR son aquellos restos de dominio variable distintos de los restos de la región hipervariable como se define en el presente documento.

Un fragmento de anticuerpo "Fv de cadena sencilla" o "scFv" comprende los dominios V.sub.H y V.sub.L de un anticuerpo, en el que estos dominios están presentes en una única cadena de polipéptido. Típicamente, el polipéptido Fv comprende además un engarce polipeptídico entre los dominios V.sub.H y V.sub.L que permite que el scFv forme la estructura deseada para la unión de antígeno. Para una revisión de scFv, véase Pluckthun en The

Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 113, Rosenberg y Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, págs. 269-315 (1994).

- 5 El término "diacuerpo" se refiere a pequeños fragmentos de anticuerpo con dos sitios de unión a antígeno, cuyos fragmentos comprenden un dominio pesado variable (V_H) conectado a un dominio ligero variable (V_L) en la misma cadena de polipéptido. Usando un engarce que es demasiado corto para permitir el apareamiento entre los dos dominios en la misma cadena, los dominios se fuerzan a aparearse con los dominios complementarios de otra cadena y crean dos sitios de unión a antígeno. Los diacuerpos se describen más completamente en, por ejemplo, el documento EP 0 404 097; documento WO 93/11161; y Hollinger y col., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 90:6444-6448.
- 10 Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, roedores) son anticuerpos quiméricos que contienen una secuencia mínima derivada de inmunoglobulina no humana. Para la mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en cuyos restos de una región hipervariable del receptor se reemplazan por restos de una región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante) tales como ratón, rata, conejo o primate no humano que tiene la especificidad, la afinidad y la capacidad deseadas. En algunos casos, los restos de la región marco (FR) de la inmunoglobulina humana se reemplazan por restos no humanos correspondientes. Por otro lado, los anticuerpos humanizados pueden comprender restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se realizan para refinar además el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todos de al menos uno y típicamente dos, dominios variables, en los que todos o sustancialmente todos los bucles hipervariables corresponden a aquellos de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las FR son aquellas de una secuencia de inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado comprenderá opcionalmente al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina (Fc), típicamente aquella de una inmunoglobulina humana. Para detalles adicionales, véase Jones y col., 1986, Nature 321:522-525; Riechmann y col., 1988, Nature 332:323-329; y Presta, 1992, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596.
- 15 20 25 Como se usa en el presente documento, "aislado" significa separado de otros componentes de (a) una fuente natural, tales como una célula vegetal o animal o un cultivo celular, o (b) una mezcla de reacción química orgánica sintética. Como se usa en el presente documento, "purificado" significa que cuando se aísla, el aislado contiene al menos un 95 % y en otro aspecto al menos un 98 %, de un compuesto (por ejemplo, un conjugado) en peso del aislado.
- 30 Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha identificado y separado y/o recuperado de un componente de su medio natural. Los componentes contaminantes de su medio natural son materiales que interferirían con los usos diagnósticos o terapéuticos para el anticuerpo y pueden incluir enzimas, hormonas y otros solutos proteicos o no proteicos. En realizaciones preferidas, el anticuerpo se purificará (1) a más del 95 % en peso de anticuerpo según se determina por el procedimiento de Lowry y más preferentemente más del 99 % en peso, (2) a un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de secuencia de aminoácidos N-terminales o internos mediante el uso de un secuenciador de copa de giro o (3) a homogeneidad por SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando azul Coomassie o, preferentemente, tinción de plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo in situ dentro de las células recombinantes ya que al menos un componente del ambiente natural del anticuerpo no estará presente. De forma ordinaria, sin embargo, el anticuerpo aislado se preparará por al menos una etapa de purificación.
- 35 40 Un anticuerpo que "induce apoptosis" es uno que induce la muerte celular programada según se determina por la unión de la anexina V, la fragmentación de ADN, la contracción celular, la dilatación del retículo endoplasmático, la fragmentación y/o la formación de las vesículas de membrana (denominados cuerpos apoptóticos). La célula es una célula tumoral, por ejemplo, una célula de mama, de ovario, estómago, de endometrio, de glándula salival, de pulmón, de riñón, de colon, de tiroides, pancreática o de vejiga. Diversos procedimientos están disponibles para evaluar los eventos celulares asociados a la apoptosis. Por ejemplo, la traslocación de fosfatidilserina (PS) puede medirse por la unión de anexina; la fragmentación de ADN puede evaluarse a través de formación de escalera de ADN; y la condensación nuclear/de la cromatina junto con la fragmentación del ADN puede evaluarse por cualquier aumento en las células hipodiploides.
- 45 50 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de un fármaco eficaz para tratar una enfermedad o trastorno en un mamífero. En el caso del cáncer, la cantidad terapéuticamente eficaz del fármaco puede reducir el número de células cancerosas; reducir el tamaño del tumor; inhibir (es decir, ralentizar en algún grado y preferentemente detener) la infiltración de las células cancerosas en los órganos periféricos; inhibir (es decir, ralentizar en algún grado y preferentemente detener) la metástasis tumoral; inhibir, en algún grado, el crecimiento tumoral; y/o aliviar en algún grado uno o más de los síntomas asociados al cáncer. Hasta el grado que el fármaco puede inhibir el crecimiento y/o matar las células cancerosas existentes, puede ser citostático y/o citotóxico. Para la terapia contra el cáncer, la efectividad puede, por ejemplo, medirse evaluando el tiempo para el avance de la enfermedad (TTP, por sus siglas en inglés) y determinar la tasa de respuesta (RR, por sus siglas en inglés).
- 55 60 La expresión "cantidad sustancial" se refiere a una mayoría, es decir, más del 50 % de una población, de una mezcla o una muestra.

- 5 La expresión "metabolito intracelular" se refiere a un compuesto que resulta de un procedimiento metabólico o una reacción dentro de una célula o un conjugado fármaco-anticuerpo (ADC). El procedimiento o la reacción metabólicos pueden ser un procedimiento enzimático tal como la escisión proteolítica de un engarce peptídico del ADC. Los metabolitos intracelulares incluyen, pero no se refieren a, anticuerpos y el fármaco libre que se han sometido a escisión intracelular después de la entrada, la difusión, la toma o el transporte en una célula.
- 10 Las expresiones "intracelularmente escindido" y "escisión intracelular" se refiere a un procedimiento o una reacción metabólicos dentro de una célula o un ADC o similares, por los que la fijación covalente, por ejemplo, el engarce, entre el resto farmacológico y el anticuerpo se rompe, dando como resultado el fármaco libre u otro metabolito del conjugado disociado del anticuerpo dentro de la célula. Los restos escindidos del ADC son de esta manera metabolitos intracelulares.
- 15 El término "biodisponibilidad" se refiere a la disponibilidad sistémica (es decir, niveles de sangre/plasma) de una cantidad dada de un fármaco administrado a un paciente. La biodisponibilidad es un término absoluto que indica la medición tanto del tiempo (velocidad) y la cantidad total (grado) de fármaco que alcanza la circulación general de una forma de dosificación administrada.
- 20 La expresión "actividad citotóxica" se refiere a un efecto de muerte celular, uno citostático o uno anti-proliferativo de un ADC o un metabolito intracelular de dicho ADC. La actividad citotóxica puede expresarse como el valor CI_{50} , que es la concentración (molar o en masa) por volumen unitario en el que las células sobreviven.
- Un "trastorno" es cualquier afección que se beneficiaría del tratamiento con un fármaco o un conjugado fármaco-anticuerpo. Esto incluye trastornos o enfermedades crónicas y agudos que incluyen aquellas afecciones patológicas que predisponen a un mamífero al trastorno en cuestión. Los ejemplos no limitantes de trastornos a tratarse en el presente documento incluyen cánceres benignos y mutantes; leucemia y malignancias linfoides, neuronales, gliales, astrocíticos, hipotalámicos y otros trastornos glandulares, macrofágicos, epiteliales, estromales y blastocélicos; y trastornos inflamatorios, angiogénicos e inmunogénicos.
- 25 Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren a o describen la afección o el trastorno fisiológicos en mamíferos que se caracteriza típicamente por el crecimiento celular sin regular. Un "tumor" comprende una o más células cancerosas.
- Los ejemplos de un "paciente" incluyen, pero no se refieren a, un ser humano, rata, ratón, cobaya, mono, cerdo, cabra, vaca, caballo, perro, gato, ave y ave de corral. En una realización ejemplar, el paciente es un ser humano.
- 30 Los términos "tratar" o "tratamiento", salvo que se indique lo contrario por contexto, se refiere al tratamiento terapéutico y a medidas profilácticas para prevenir la recaída, en el que el objeto es inhibir o ralentizar (disminuir) un cambio o trastorno fisiológico indeseado, tal como el desarrollo de la extensión del cáncer. Para los fines de la presente invención, los beneficios o resultados clínicos deseados incluyen, pero no se limitan a, el alivio de síntomas, la disminución de la extensión de la enfermedad, el estado estabilizado (es decir, que no empeore) de la enfermedad, el retraso o la ralentización en la evolución de la enfermedad, la mejora o el alivio del estado de la enfermedad y la remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Aquellos en necesidad de tratamiento incluyen aquellos que tienen la afección o el trastorno así como aquellos propensos a tener la afección o el trastorno.
- 35 En el contexto del cáncer, el término "tratar" incluye cualquiera o todos de inhibir el crecimiento de las células tumorales, células cancerosas, o de un tumor; inhibir la replicación de las células tumorales o las células cancerosas, disminuir la carga global del tumor o disminuir el número de células cancerosas y mejorar uno o más síntomas asociados a la enfermedad.
- 40 En el contexto de una enfermedad autoinmune, el término "tratar" incluye cualquiera o todos de inhibir la replicación de las células asociadas a un estado de la enfermedad autoinmune incluyendo, pero no limitado a, células que producen un anticuerpo autoinmune, disminuir la carga del anticuerpo autoinmune y mejorar uno o más síntomas de una enfermedad autoinmune.
- 45 En el contexto de una enfermedad infecciosa, el término "tratar" incluye cualquiera o todos de: inhibir el crecimiento, la multiplicación o la replicación del patógeno que provoca la enfermedad infecciosa y mejorar uno o más síntomas de una enfermedad infecciosa.
- 50 El término "prospecto" se usa para referirse a las instrucciones habitualmente incluidas en los envases comerciales de productos terapéuticos, que contienen información acerca de la indicación o indicaciones, el uso, la dosificación, la administración, las contraindicaciones y/o las advertencias que conciernen al uso de dichos productos terapéuticos.
- 55 Como se usa en el presente documento, Los términos "célula", "línea celular", y "cultivo celular" se usan intercambiamente y todas estas designaciones incluyen a la descendencia. Las palabras "transformantes" y "células transformadas" incluyen la célula del sujeto primaria y los cultivos o la descendencia derivados de la misma

sin importar el número de transferencias. También se entiende que toda la descendencia no tiene por qué ser precisamente idéntica en cuanto a contenido de ADN, debido a mutaciones deliberadas o inadvertidas. Se incluye la descendencia mutante que tiene la misma función o actividad biológica como se detectó en la célula originalmente transformada. Cuando se entiendan distintas designaciones, estarán claras a partir del contexto.

- 5 A menos que se indique lo contrario, el término "alquilo" por sí mismo o como parte de otro término se refiere a un hidrocarburo de cadena lineal o ramificado, saturado que tiene el número indicado de átomos de carbono (por ejemplo, alquilo "C₁-C₈" se refiere a un grupo alquilo que tiene de 1 a 8 átomos de carbono). Cuando el número de átomos de carbono no está indicado, el grupo alquilo tiene de 1 a 8 átomos de carbono. Los alquilos C₁-C₈ de cadena lineal representativos incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo y n-octilo; mientras que los alquilos C₁-C₈ ramificados incluyen, pero sin limitación, -isopropilo, -sec-butilo, -isobutilo, -*tert*-butilo, -isopentilo y -2-metilbutilo; los alquilos C₂-C₈ insaturados incluyen, pero sin limitación, vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo, acetilenilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo y 3-metil-1-butinilo.
- 10
- 15 A menos que se indique lo contrario, "alquilenilo", por sí mismo o como parte de otro término, se refiere a un radical hidrocarburo saturado, lineal o ramificado o cíclico del número indicado de átomos de carbono, típicamente 1-18 átomos de carbono, y que tiene dos centros de radical monovalente obtenidos mediante la retirada de dos átomos de hidrógeno del mismo átomo de carbono o de dos diferentes de un alcano precursor. Los radicales alquilenilo típicos incluyen, pero sin limitación: metileno (-CH₂-), 1,2-etileno (-CH₂CH₂-), 1,3-propileno (-CH₂CH₂CH₂-), 1,4-butileno (-CH₂CH₂CH₂CH₂-) y similares. Un alquilenilo "C₁-C₁₀" de cadena lineal es un grupo hidrocarburo saturado de cadena lineal de la fórmula -(CH₂)₁₋₁₀-. Los ejemplos de un alquilenilo C₁-C₁₀ incluyen metileno, etileno, propileno, butileno, pentileno, hexileno, heptileno, octileno, nonileno y decaleno.
- 20

- 25 A menos que se indique lo contrario, el término "heteroalquilo", por sí mismo o junto con otro término, significa, a menos que se indique otra cosa, un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada estable o combinaciones de los mismos, totalmente saturado o que contiene de 1 a 3 grados de insaturación, que consiste en el número indicado de átomos de carbono y de uno a tres heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en O, N, Si y S, y en el que los átomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. El heteroátomo o heteroátomos O, N y S pueden estar situados en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo. El heteroátomo Si puede estar situado en cualquier posición del grupo heteroalquilo, incluyendo la posición en la que el grupo alquilo está unido al resto de la molécula. Hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos.
- 30

A menos que se indique lo contrario, el término "heteroalquilenilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa un grupo divalente derivado de un heteroalquilo (como se ha descrito anteriormente). Para grupos heteroalquilenilo, los heteroátomos también pueden ocupar uno o ambos extremos de la cadena.

- 35 A menos que se indique lo contrario, "arilo", por sí mismo o como parte de otro término, significa un radical hidrocarburo aromático, carbocíclico, monovalente, sustituido o no sustituido de 6-20, preferentemente de 6-14, átomos de carbono obtenidos mediante la retirada de un átomo de hidrógeno de un solo átomo de carbono de un sistema de anillo aromático precursor. Los grupos arilo típicos incluyen, pero sin limitación, radicales derivados de benceno, benceno sustituido, naftaleno, antraceno, bifenilo y similares. Un grupo aromático carbocíclico sustituido (por ejemplo, un grupo arilo) puede estar sustituido con uno o más, preferentemente de 1 a 5, de los siguientes grupos: alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en los que cada R' se selecciona independientemente entre -H, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido. En algunas realizaciones, un grupo aromático carbocíclico sustituido puede incluir adicionalmente uno o más de: -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR'.
- 40
- 45 "Arieno" es el resto divalente correspondiente.

- "Alquilo sustituido" significa un alquilo en el que uno o más átomos de hidrógeno están cada uno reemplazado independientemente con un sustituyente. Los sustituyentes típicos incluyen, pero sin limitación, -X, -R, -O-, -OR-, -SR-, -S-, -NR₂, -NR₃, =NR, -CX₃, -CN, -OCN, -SCN, -N=C=O, -NCS, -NO, -NO₂, =N₂, -N₃, -NRC(=O)R, -C(=O)NR₂, -SO₃-, -SO₃H, -S(=O)₂R, -OS(=O)₂OR, -S(=O)₂NR, -S(=O)R, -OP(=O)(OR)₂, -P(=O)(OR)₂, -PO₃²⁻, PO₃H₂, -AsO₂H₂, -C(=O)R, -C(=O)X, -C(=S)R, -CO₂R, -CO₂-, -C(=S)OR, -C(=O)SR, -C(=S)SR, -C(=O)NR₂, -C(=S)NR₂ o -C(=NR)NR₂, en los que cada X es independientemente un halógeno: -F, -Cl, -Br o -I; y cada R es independientemente -H, alquilo C₁-C₂₀, heteroalquilo C₁-C₂₀, arilo C₆-C₂₀, heterociclilo C₁-C₁₀, un grupo protector o un resto de profármaco. Los grupos arilo, alquilenilo y heteroalquilenilo como se han descrito anteriormente también pueden estar sustituidos de forma similar.
- 50

- 55 A menos que se indique lo contrario, "aralquilo", por sí mismo o como parte de otro término, significa un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, sustituido con un grupo arilo, como se ha definido anteriormente.

A menos que se indique lo contrario, "heterociclilo C₁-C₁₀", por sí mismo o como parte de otro término, se refiere a un sistema de anillo monovalente, sustituido o no sustituido, aromático o no aromático, monocíclico, bicíclico o tricíclico que tiene de 1 a 10, preferentemente de 3 a 8, átomos de carbono (también denominados miembros de

anillo) y de uno a cuatro miembros de anillo de heteroátomo seleccionados independientemente entre N, O, P o S, y obtenidos mediante la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo del anillo de un sistema de anillo precursor. Uno o más átomos de N, C o S en el heterociclilo pueden estar oxidados. El anillo que incluye el heteroátomo puede ser aromático o no aromático. A menos que se indique otra cosa, el heterociclilo está unido a su grupo pendiente en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable. Los ejemplos representativos de un heterociclilo C₁-C₁₀ incluyen, pero sin limitación, tetrahidrofuranilo, oxetanilo, piranilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, benzofuranilo, benzotiofeno, benzotiazolilo, indolilo, benzopirazolilo, pirrolilo, tiofenilo (tiofeno), furanilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, quinolinilo incluyendo restos, tales como 1,2,3,4-tetrahidro-quinolinilo, pirimidinilo, piridinilo, piridonilo, pirazinilo, piridazinilo, isotiazolilo, isoxazolilo, tetrazolilo, epóxido, oxetano y BODIPY (sustituido o no sustituido). Un heterociclilo C₁-C₁₀ puede estar sustituido con hasta siete grupos incluyendo, pero sin limitación, alquilo C₁-C₈, heteroalquilo C₁-C₈, -OR', arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(=O)₂R', -S(O)R', halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en los que cada R' se selecciona independientemente entre -H, alquilo C₁-C₈, heteroalquilo C₁-C₈ y arilo. En algunas realizaciones, un heterociclilo sustituido también puede incluir uno o más de: -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR'. "Heterociclo" "heterociclo C₁-C₁₀" es el resto divalente correspondiente.

A menos que se indique lo contrario, "heteroalquilo", por sí mismo o como parte de otro término, significa un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, sustituido con un grupo heterociclilo aromático, como se ha definido anteriormente. Heteroalquilo es el resto divalente correspondiente.

A menos que se indique lo contrario, "carbociclilo C₃-C₈", por sí mismo o como parte de otro término, es un anillo carbocíclico, monocíclico o bicíclico, no aromático, saturado o insaturado, sustituido o no sustituido, monovalente de 3, 4, 5, 6, 7 u 8 miembros obtenido mediante la retirada de un átomo de hidrógeno de un átomo de anillo de un sistema de anillo precursor. Los carbociclicos C₃-C₈ representativos incluyen, pero sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentadienilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, 1,3-ciclohexadienilo, 1,4-ciclohexadienilo, cicloheptilo, 1,3-cicloheptadienilo, 1,3,5-cicloheptatrienilo, ciclooctilo, ciclooctadienilo, biciclo(1,1,1)pentano y biciclo(2,2,2)octano. Un grupo carbociclilo C₃-C₈ puede estar sin sustituir o sustituido con hasta siete grupos incluyendo, pero sin limitación, alquilo C₁-C₈, heteroalquilo C₁-C₈, -OR', arilo, -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(=O)₂R', -S(O)R', -OH, -halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂ y -CN; en los que cada R' se selecciona independientemente entre -H, alquilo C₁-C₈, heteroalquilo C₁-C₈ y arilo. "carbociclo C₃-C₈" es el resto divalente correspondiente.

El término "quiral" se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superposición del compañero de imagen especular, mientras que el término "aquiral" se refiere a moléculas que son superponibles sobre sus compañeros de imagen especular.

El término "estereoisómeros" se refiere a compuestos que tienen una constitución química idéntica, pero se diferencian con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

"Diastereómero" se refiere a un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares la una de la otra. Los diastereómeros tienen propiedades físicas diferentes, por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales y reactividades. Pueden separarse mezclas de diastereómeros en procedimientos analíticos de alta resolución, tales como electroforesis y cromatografía.

Las definiciones estereoquímicas y convenciones usadas en el presente documento siguen generalmente S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms, McGraw-Hill Book Company, Nueva York (1984); y Eliel y Wilen, Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1994). Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de luz polarizada en el plano. En la descripción de un compuesto ópticamente activo, los prefijos D y L o R y S, se usan para indicar la configuración absoluta de la molécula en torno a su centro o centros quirales. Los prefijos d y l o (+) y (-) se emplean para designar el signo de la rotación de la luz polarizada en el plano por el compuesto, significando (-) o l que el compuesto es levógiro. Un compuesto con el prefijo (+) o d es dextrógiro. Para una estructura química dada, estos estereoisómeros son idénticos excepto porque son imágenes especulares el uno del otro. Un estereoisómero específico también puede denominarse como un enantiómero, y una mezcla de tales isómeros se llama frecuentemente una mezcla enantiomérica. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina como una mezcla racémica o un racemato, lo que puede suceder donde no ha habido estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o procedimiento químico. Las expresiones "mezcla racémica" y "racemato" se refieren a una mezcla equimolar de dos especies enantioméricas, sin actividad óptica.

Un "derivado" de aminoácido incluye un aminoácido que tiene sustituciones o modificaciones mediante unión covalente de un aminoácido precursor, tales como, por ejemplo, por alquilación, glicosilación, acetilación, fosforilación y similares. Se incluye adicionalmente dentro de la definición de "derivado", por ejemplo, uno o más análogos de un aminoácido con engarces sustituidos, así como otras modificaciones conocidas en la técnica.

Un "aminoácido natural" se refiere a arginina, glutamina, fenilalanina, tirosina, triptófano, lisina, glicina, alanina, histidina, serina, prolina, ácido glutámico, ácido aspártico, treonina, cisteína, metionina, leucina, asparagina, isoleucina y valina, a menos que se indique otra cosa por el contexto.

"Grupo protector" se refiere a un resto que cuando se une a un grupo reactivo en una molécula enmascara, reduce o previene esa reactividad. Pueden encontrarse ejemplos de grupos protectores en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 1999, y Harrison and Harrison y col., Compendium of Synthetic Organic Methods, Vols. 1-8 (John Wiley and Sons, 1971-1996), que se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad. Los grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen grupos acilo, bencil y tritil éteres, tetrahidropiraniol éteres, trialkilsilil éteres y alil éteres. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, formilo, acetilo, trifluoroacetilo, bencilo, benciloxicarbonilo (CBZ), *tert*-butoxicarbonilo (Boc), trimetil sililo (TMS), 2-trimetilsilil-etanosulfonilo (SES), tritilo y grupos tritilo sustituidos, aliloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), nitro-veratriloxicarbonilo (NVOC), y similares.

Los ejemplos de un "grupo protector de hidroxilo" incluyen, pero sin limitación, metoximetil éter, 2-metoxietoximetil éter, tetrahidropiraniol éter, bencil éter, *p*-metoxibencil éter, trimetilsilil éter, trietilsilil éter, triisopropil silil éter, *t*-butildimetil silil éter, trifenilmetil silil éter, éster de acetato, ésteres de acetato sustituidos, pivaloato, benzoato, metanosulfonato y *p*-toluenosulfonato.

"Grupo saliente" se refiere a un grupo funcional que puede sustituirse por otro grupo funcional. Tales grupos salientes son bien conocidos en la materia, y los ejemplos incluyen, pero sin limitación, un haluro (por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro), metanosulfonilo (mesilo), *p*-toluenosulfonilo (tosilo), trifluorometilsulfonilo (triflato) y trifluorometilsulfonato.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a sales orgánicas o inorgánicas farmacéuticamente aceptables de un compuesto. El compuesto típicamente contiene al menos un grupo amino, y en consecuencia pueden formarse sales de adición de ácidos con este grupo amino. Las sales ejemplares incluyen, pero sin limitación, las sales sulfato, citrato, acetato, oxalato, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, bisulfato, fosfato, fosfato de ácido, isonicotinato, lactato, salicilato, citrato de ácido, tartrato, oleato, tanato, pantotenato, bitartrato, ascorbato, succinato, maleato, malato, gentisinato, fumarato, gluconato, glucuronato, sacarato, formiato, benzoato, glutamato, metanosulfonato, etanosulfonato, bencenosulfonato, *p*-toluenosulfonato y pamoato (es decir, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)). Una sal farmacéuticamente aceptable puede implicar la inclusión de otra molécula, tal como un ion de acetato, un ion de succinato u otro contraión. El contraión puede ser cualquier resto orgánico o inorgánico que estabiliza la carga en el compuesto precursor. Por otro lado, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener más de un átomo cargado en su estructura. Algunos casos en los que átomos múltiplemente cargados son parte de la sal farmacéuticamente aceptable pueden tener múltiples contraiones. De este modo, una sal farmacéuticamente aceptable puede tener uno o más átomos cargados y/o uno o más contraiones.

"Solvato farmacéuticamente aceptable" o "solvato" se refiere a una asociación de una o más moléculas de disolvente y un compuesto o conjugado de la invención. Los ejemplos de disolventes que forman solvatos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, agua, isopropanol, etanol, metanol, DMSO, acetato de etilo, ácido acético y etanolamina.

Las expresiones "carga" o "carga de fármaco" o "carga útil" representan o se refieren al número promedio de cargas útiles ("carga útil" y "cargas útiles" se usan de forma intercambiable en el presente documento con "fármaco" y "fármacos") por anticuerpo en una molécula de ADC. La carga de fármaco puede variar de 1 a 20 fármacos por anticuerpo. Esto a veces se denomina la DAR o la relación de fármaco a anticuerpo. Las composiciones de los ADC descritos en el presente documento tienen típicamente DAR de 1-20 y en determinadas realizaciones de 1-8, de 2-8, de 2-6, de 2-5 y de 2-4. Los valores de DAR típicos son 2, 4, 6 y 8. El número promedio de fármacos por anticuerpo, o valor DAR, puede caracterizarse por medios convencionales tales como espectroscopía UV/visible, espectrometría de masas, ensayo ELISA y HPLC. El valor cuantitativo de DAR también puede determinarse. En algunos casos, la separación, la purificación y la caracterización de ADC homogéneos que tienen un valor DAR particular pueden lograrse por medios tales como HPLC de fase inversa o electroforesis. La DAR puede estar limitada por el número de sitios de fijación en el anticuerpo. Por ejemplo, donde la fijación es un tiol de cisteína, un anticuerpo puede tener solamente uno o varios grupos tiol de cisteína, o pueden tener solamente uno o varios grupos tiol suficientemente reactivos a través de los que puede fijarse una unidad conectora. En algunas realizaciones, el tiol de cisteína es un grupo tiol de un resto de cisteína que forma un enlace disulfuro intracatenario. En algunas realizaciones, el tiol de cisteína es un grupo tiol de un resto de cisteína que no forma un enlace disulfuro intracatenario. Típicamente, menos del máximo teórico de restos farmacológicos se conjugan a un anticuerpo durante una reacción de conjugación. Un anticuerpo puede contener, por ejemplo, muchos restos de lisina que no reaccionan con un engarce o un intermedio engarce. Solamente los grupos de lisina más reactivos pueden reaccionar con un reactivo engarce reactivo.

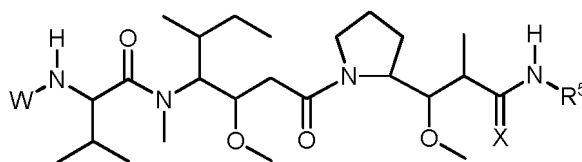
Generalmente, los anticuerpos no contienen muchos, en caso de haberlos, grupos tiol de cisteína libres y reactivos que pueden conectarse con un fármaco a través de un engarce. La mayoría de restos tiol de cisteína en los anticuerpos existe como puentes disulfuro y debe reducirse con un agente reductor tales como ditiotreitól (DTT). El anticuerpo puede someterse a condiciones desnaturizantes para revelar grupos nucleófilos reactivos tales como lisina y cisteína. La carga (relación fármaco/anticuerpo) de un ADC puede controlarse de varias diferentes maneras, incluyendo: (i) limitar el exceso molar de fármaco-engarce con respecto al anticuerpo, (ii) limitar el tiempo o la temperatura de la reacción de conjugación y (iii) condiciones reductoras parciales o limitantes para la modificación de tiol de cisteína. Cuando más de un grupo nucleófilo reacciona con un fármaco-engarce después el producto

resultante es una mezcla de ADC con una distribución de uno o más restos farmacológicos por anticuerpo. El número promedio de fármacos por anticuerpo puede calcularse a partir de la mezcla por, por ejemplo, ensayo ELISA de anticuerpo dual, específico para el anticuerpo y específico para el fármaco. Los ADC individuales pueden identificarse en la mezcla por espectroscopía de masas y separarse por HPLC, por ejemplo, cromatografía de interacción hidrófoba.

A continuación hay una lista de abreviaturas y definiciones que pueden no definirse de otra manera o describirse en la presente solicitud: DMSO (se refiere a dimetilsulfóxido), HRMS (se refiere a espectrometría de masas de alta resolución), DAD (se refiere a detección de disposición de diodos), TFA (se refiere a ácido 2,2,2-trifluoroacético o ácido trifluoroacético), TFF (se refiere a filtración de flujo tangencial), EtOH (se refiere a etanol), MW (se refiere a peso molecular), HPLC (se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento), HPLC prep (se refiere a cromatografía líquida de alto rendimiento preparativa), etc. (se refiere a etcétera), trilito (se refiere a 1,1,1"-etan-1,1,1-triltribenceno), THF (se refiere a tetrahidrofurano), NHS (se refiere a 1-hidroxi-2,5-pirrolidindiona), Cbz (se refiere a carboxibencilo), eq. (se refiere a equivalente), n-BuLi (se refiere a n-butilitio), OAc (se refiere a acetato), MeOH (se refiere a metanol), *i*-Pr (se refiere a isopropilo o propan-2-ilo), NMM (se refiere a 4-metilmorfolina) y "-" (en una tabla se refiere a datos no disponibles en este momento).

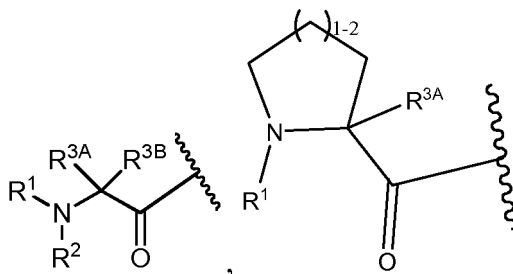
Compuestos y conjugados fármaco anticuerpo de los mismos

Un aspecto de la invención se refiere a un compuesto de fórmula I:



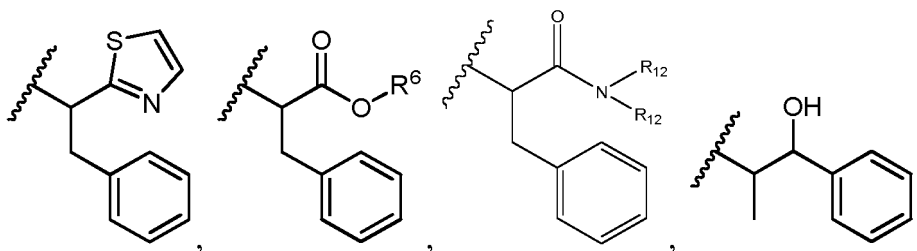
I

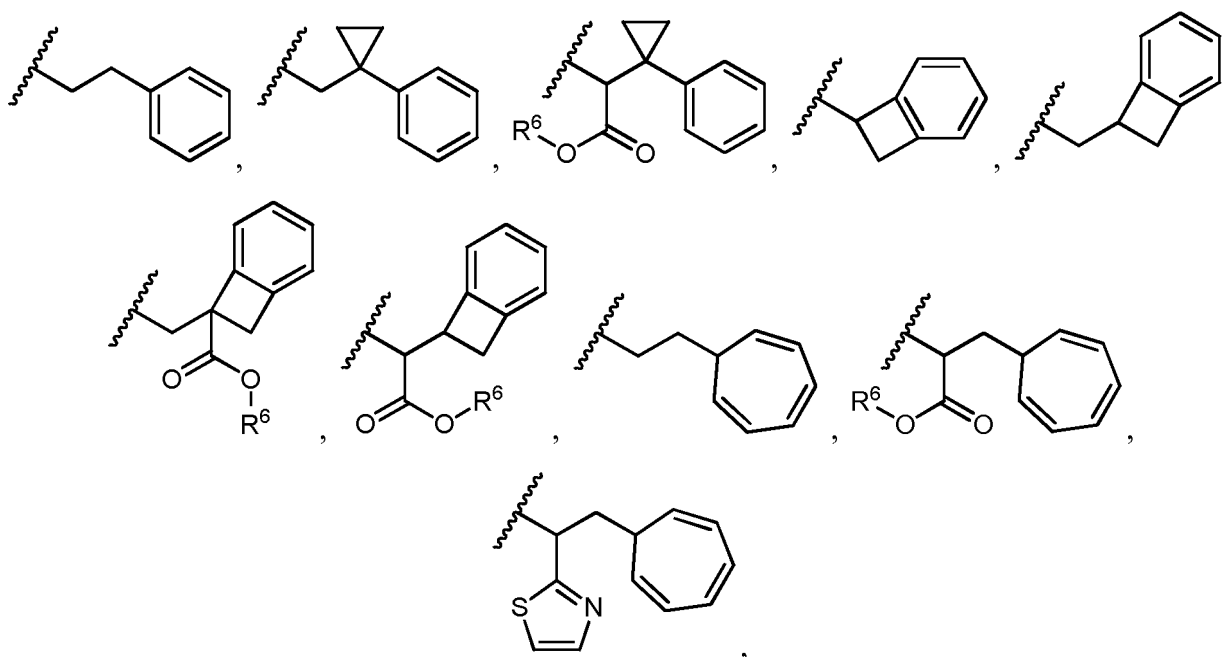
o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente, W es



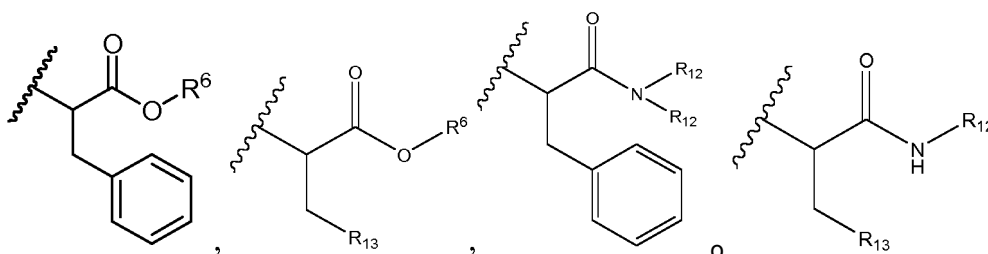
R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

- (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o
 - (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileno C₂-C₈, dicho alquileno C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileno C₁-C₈, dicho heteroalquileno C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;
- R⁵ es





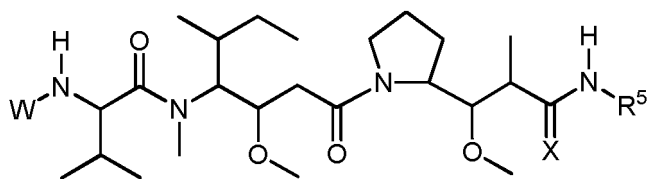
5 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR' -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;
 10 o R⁵ es



15 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

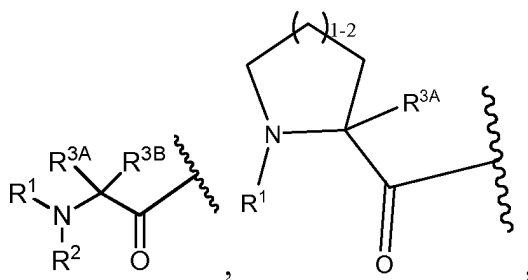
20 R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;
 R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;
 R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y
 X es O

Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula IIa:

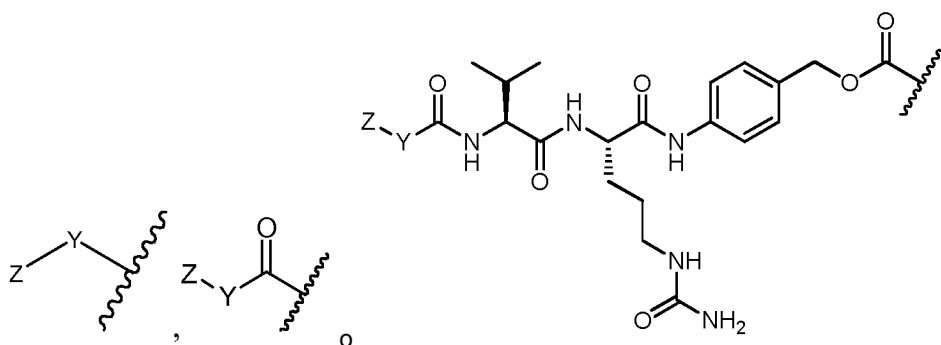


IIa

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente, W es

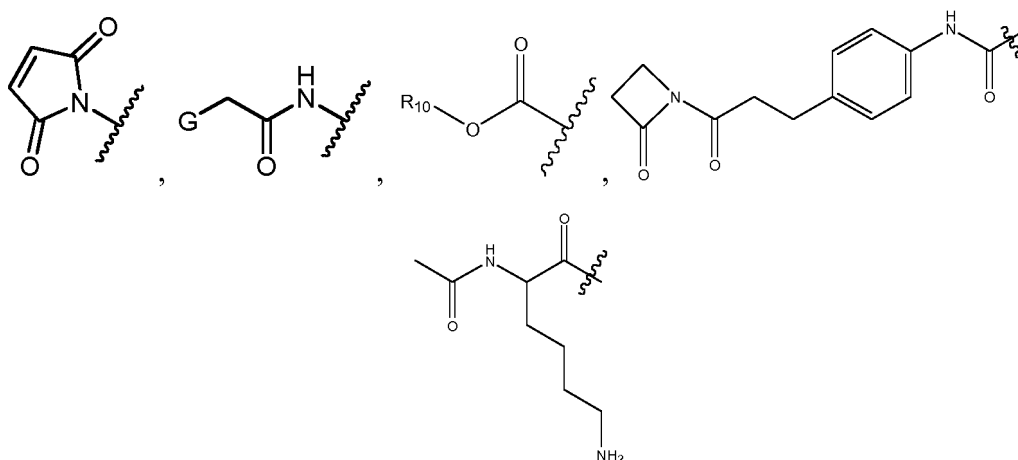


5 R¹ es



Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₆-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-;

10 Z es



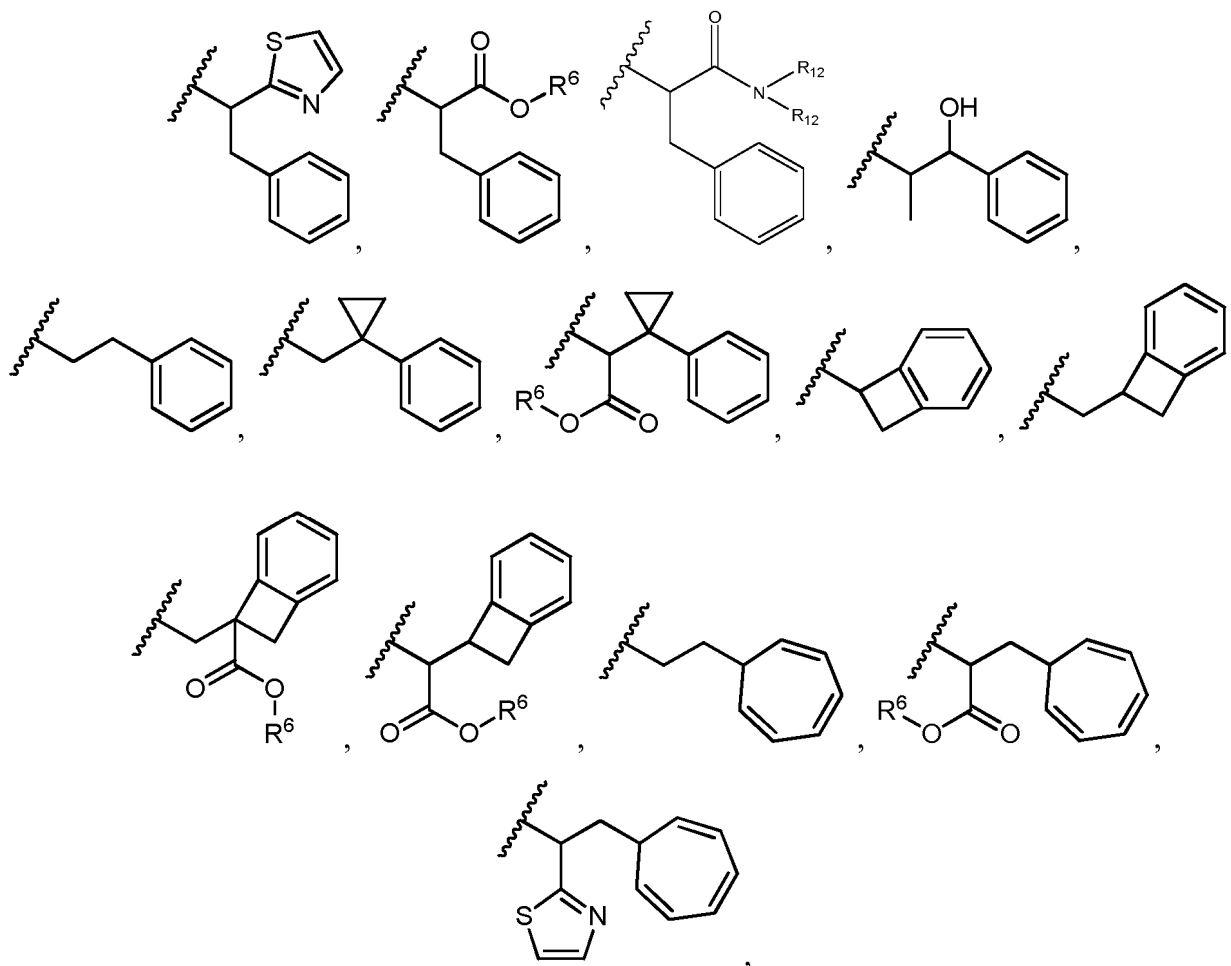
15 o -NH₂;
G es halógeno, -OH, -SH o -S-alquilo C₁-C₆;
R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

(i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y

R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o

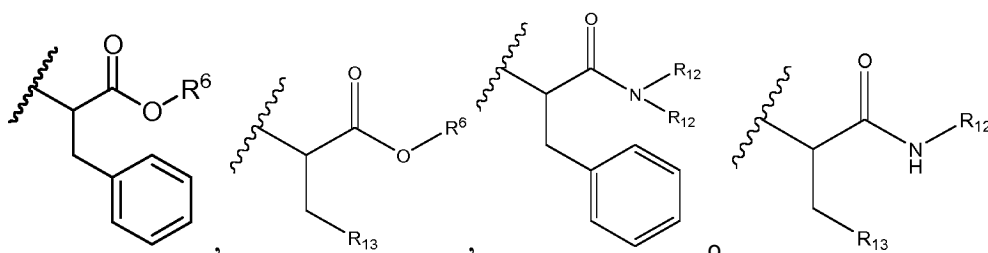
(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileno C₂-C₈, dicho alquileno C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileno C₁-C₈, dicho heteroalquileno C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

5 R⁵ es



10 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR' -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo C₁-C₁₀;

15 o R⁵ es



20 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈,

alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;

R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;

R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y

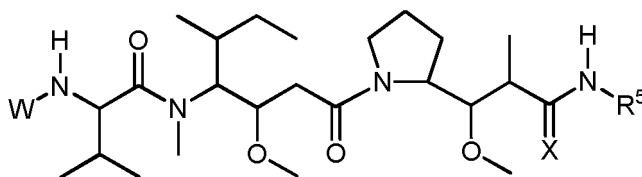
R⁷ se selecciona independientemente cada vez que aparece entre el grupo que consiste en F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;

R¹⁰ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₁₀, -carbociclilo C₃-C₈, arilo, -heteroalquilo C₁-C₁₀, -heterociclo C₃-C₈, -alquilen C₁-C₁₀-arilo, -arileno-alquilo C₁-C₁₀, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈), -(carbociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈) y -(heterociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, en los que el arilo en los R₁₀ que comprenden arilo está opcionalmente sustituido con [R₇]_h;

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

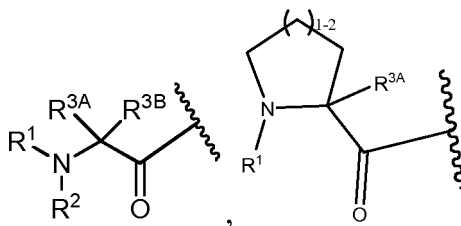
X es O

Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula IIIa:



IIIa

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente, W es



R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

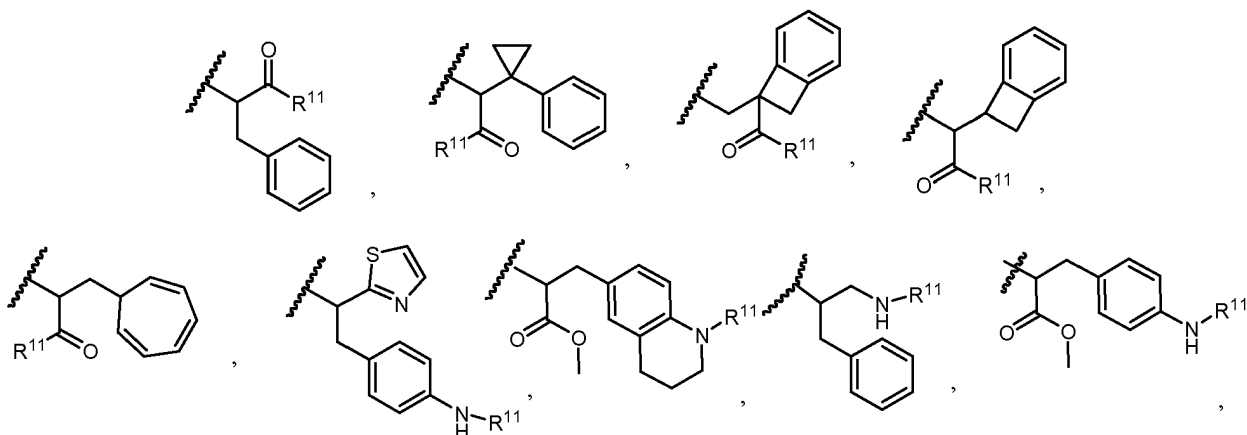
R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

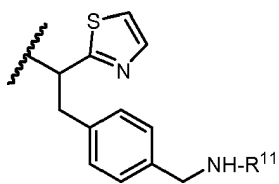
(i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y

R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o

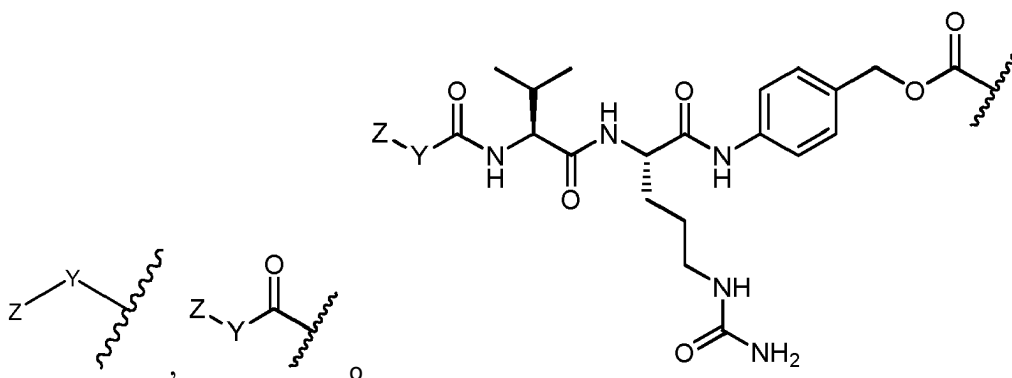
(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquilen C₂-C₈, dicho alquilen C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquilen C₁-C₈, dicho heteroalquilen C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

R⁵ es

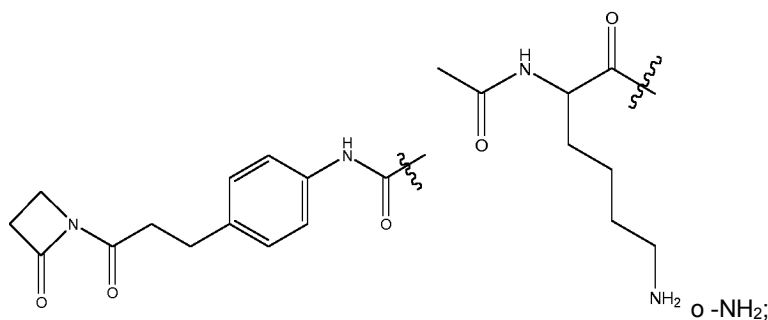
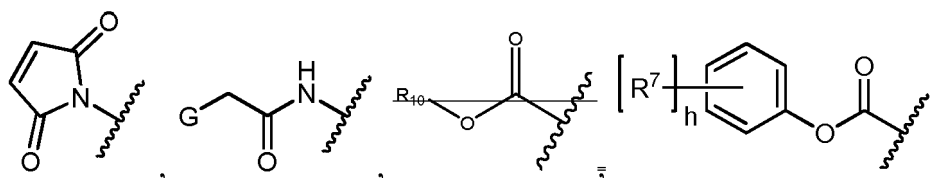




- 5 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido; R¹¹ es



- 10 Y es -alquilenos C₂-C₂₀-, -heteroalquilenos C₂-C₂₀-, carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-; Z es

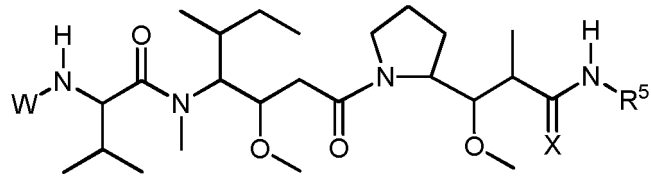


- 15 G es halógeno, -OH, -SH o -S-alquilo C₁-C₆; R⁷ se selecciona independientemente cada vez que aparece entre el grupo que consiste en F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;

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

X es O.

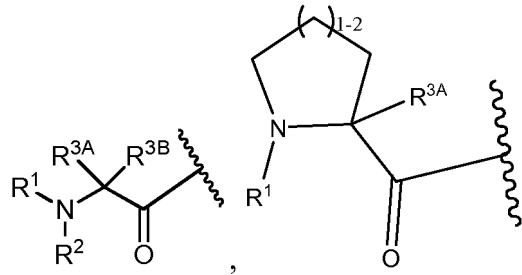
- 20 Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula IIb:



IIb

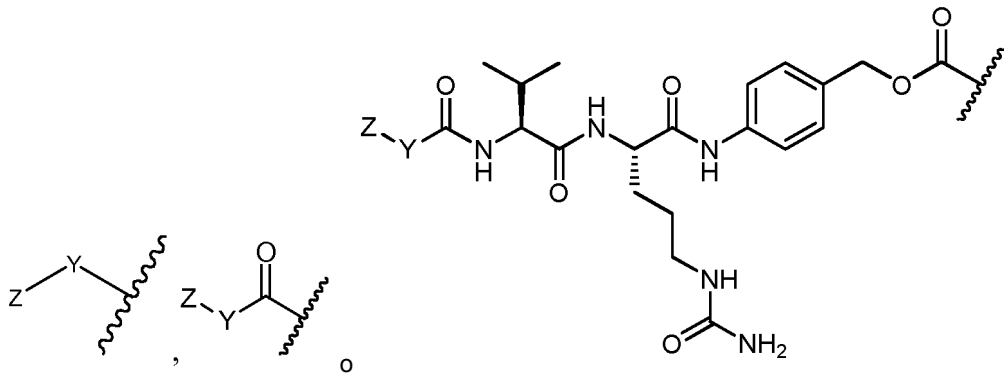
o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente,

W es



5

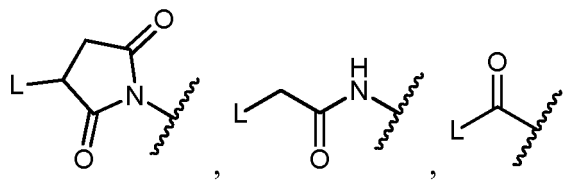
R¹ es

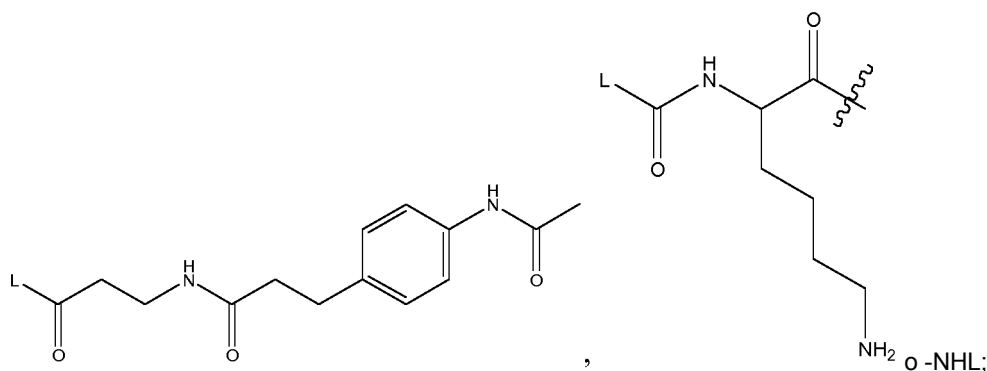


10

Y es -alquileno C₂-C₂₀-, -heteroalquileno C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileno C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileno C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileno C₁-C₁₀-;

Z es





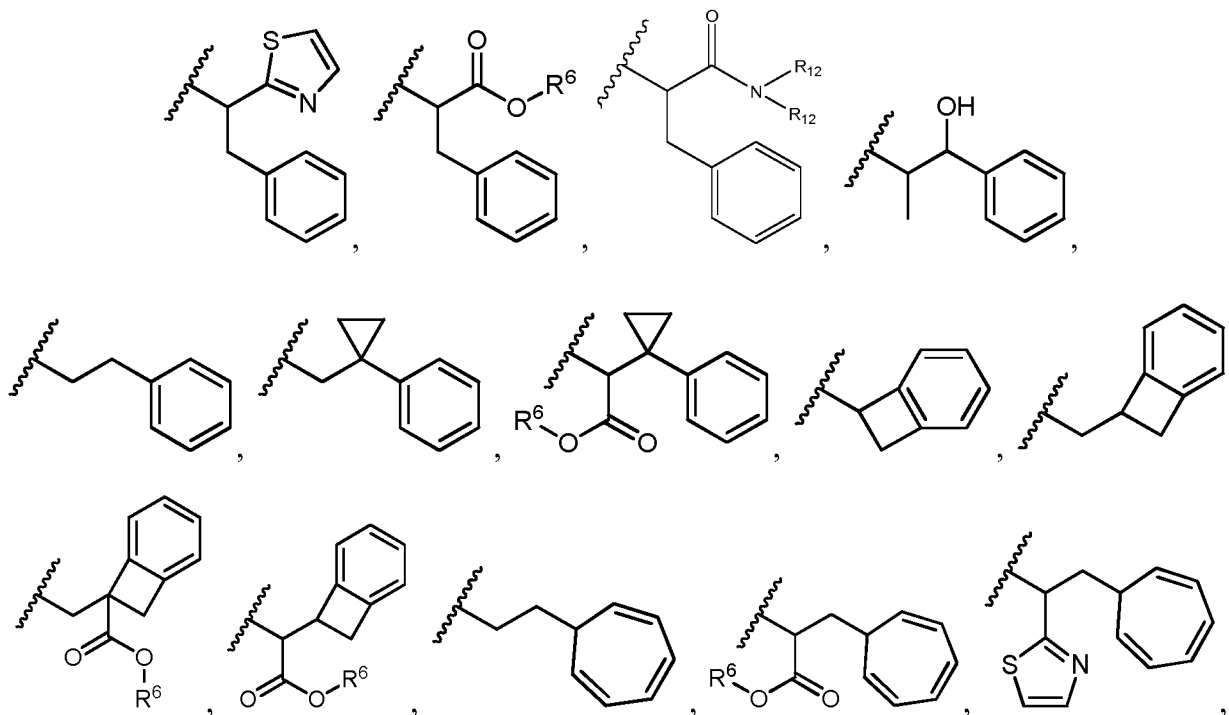
L es un anticuerpo;

R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

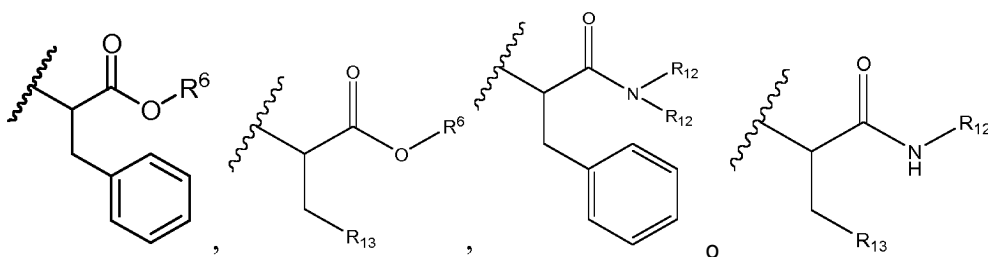
- 5 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileno C₂-C₈, dicho alquileno C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileno C₁-C₈, dicho heteroalquileno C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

- 10 (ii)
R⁵ es



- 15 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR' -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo C₁-C₁₀;

- 20 o R⁵ es



opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH,

- 5 halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

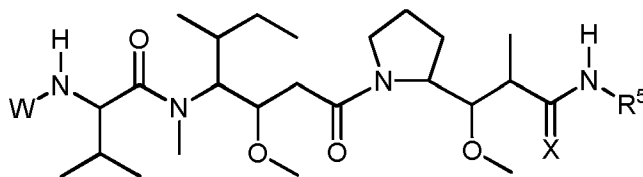
R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueniilo C₂-C₈, -alquinilo C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;

- 10 R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;

R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y

X es O

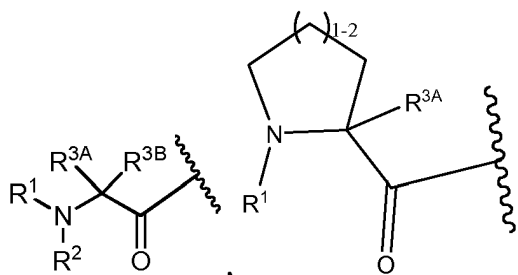
Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula **IIIb**:



IIIb

- 15 o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente,

W es



- 20 R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

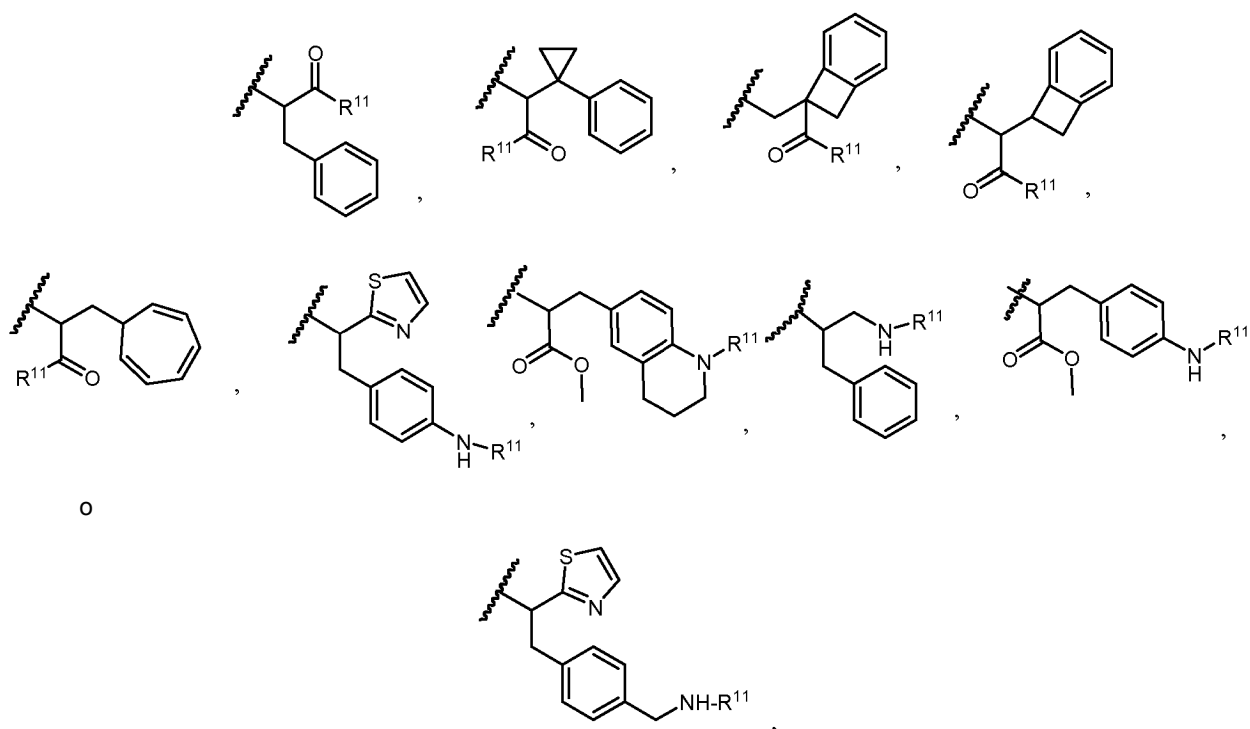
R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

- 25 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o
 (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquilen C₂-C₈, dicho alquilen C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquilen C₁-C₈, dicho heteroalquilen C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

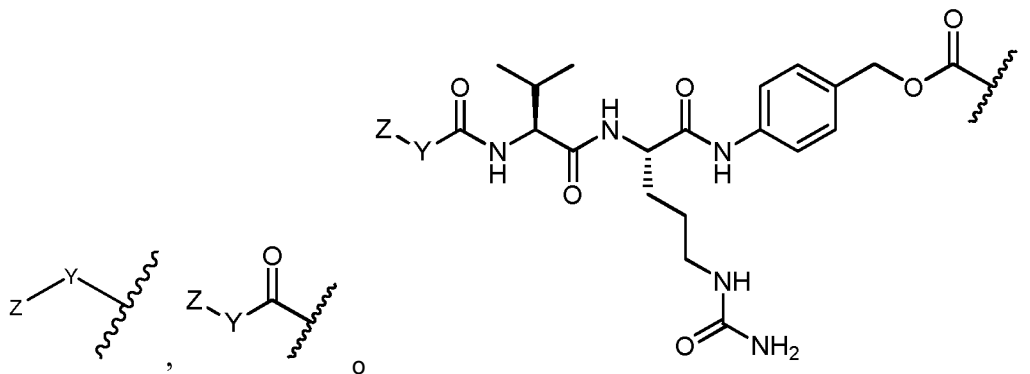
(ii)

R⁵ es

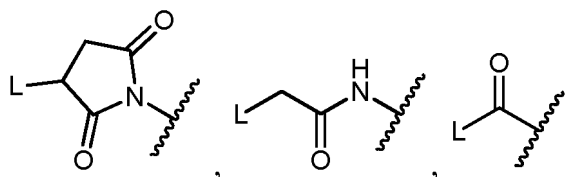


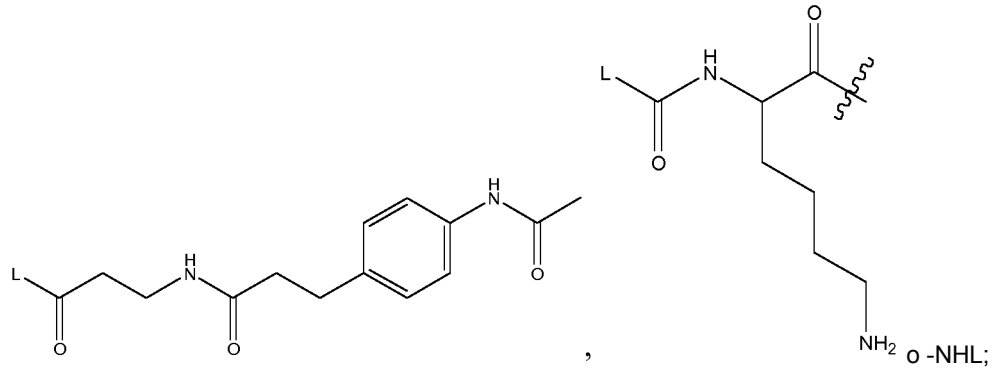
o

5 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que
 consiste en alquilo C₁-C₈, -O(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -
 C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH,
 10 halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR, en los que cada R'
 se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no
 sustituido;
 R¹¹ es



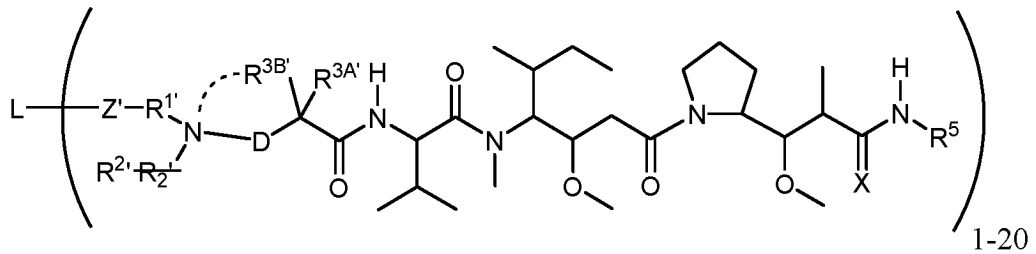
15 Y es -alquilenos C₂-C₂₀-, -heteroalquilenos C₂-C₂₀-, -carbociclos C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclos C₃-C₈-, -alquilenos C₁-
 C₁₀-arileno-, -arileno-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilenos C₁-C₁₀-(carbociclos C₃-C₈)-, -(carbociclos C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-,
 -alquilenos C₁-C₁₀-(heterociclos C₃-C₈)- o -(heterociclos C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-;
 Z es





L es un anticuerpo;
X es O.

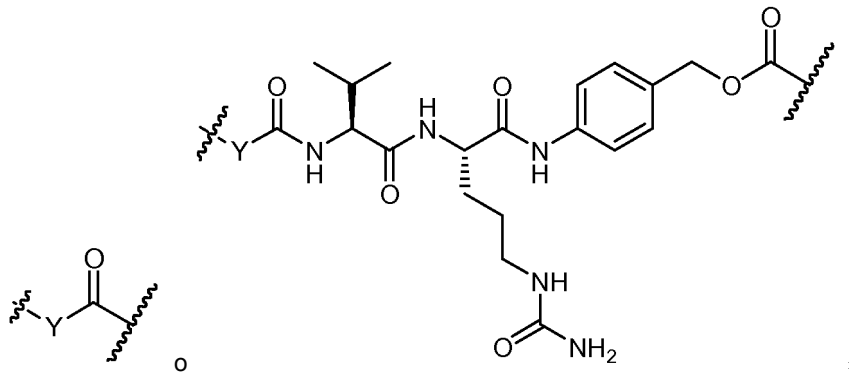
Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula **IIc**:



5

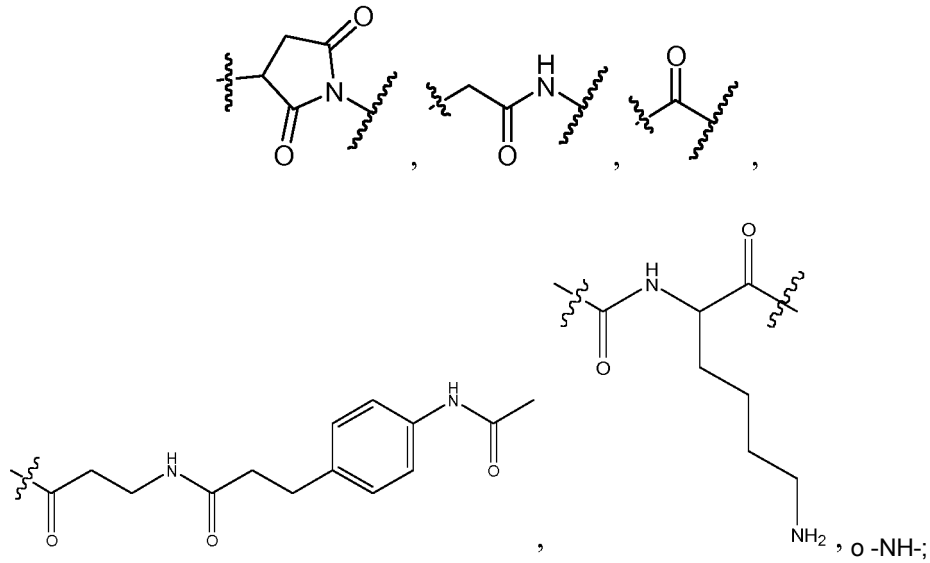
IIc

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente, R¹ es



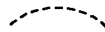
10

Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₆-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-; Z' es



L es un anticuerpo;
 D está ausente;
 R^{2'} es hidrógeno, alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, o está ausente si

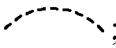
5



está presente;
 R^{3A'} y R^{3B'} son cualquiera de los siguientes:

10

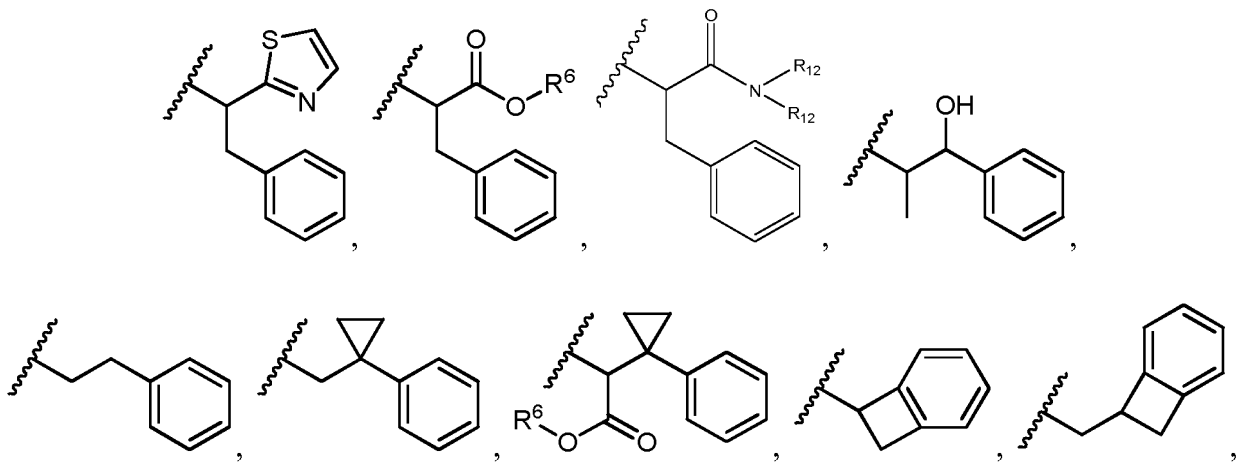
(i) R^{3A'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈, o halógeno, o R^{3B'} es alquileno C₂-C₄ y forma un anillo saturado de 5 a 6 miembros como se indica mediante

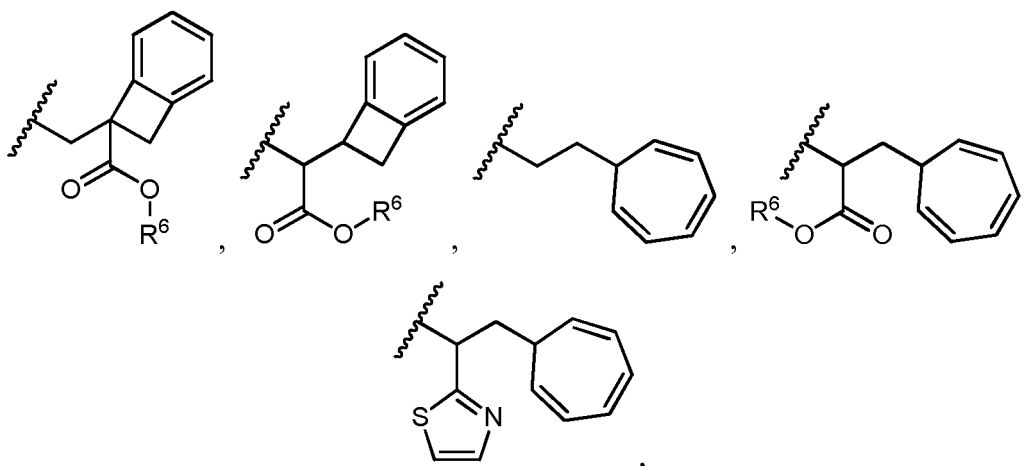


15

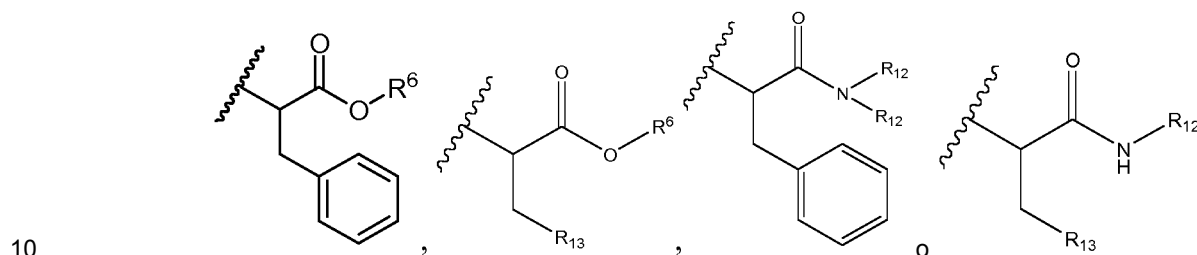
o
 (ii) R^{3A'} y R^{3B'} tomados juntos son alquileno C₂-C₈, dicho alquileno C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileno C₁-C₈, dicho heteroalquileno C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

(ii) R⁵ es



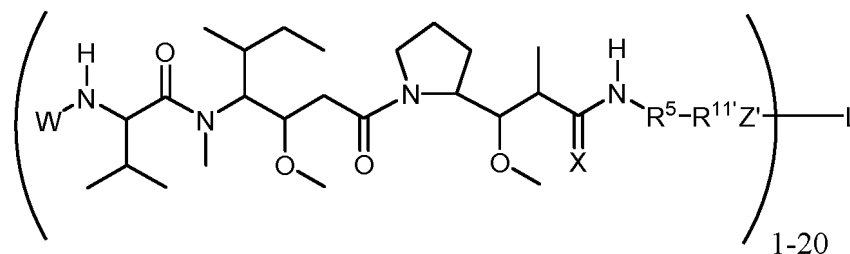


5 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR' -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo C₁-C₁₀; o R⁵ es



10 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;
 15 R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;
 R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;
 20 R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y
 X es O

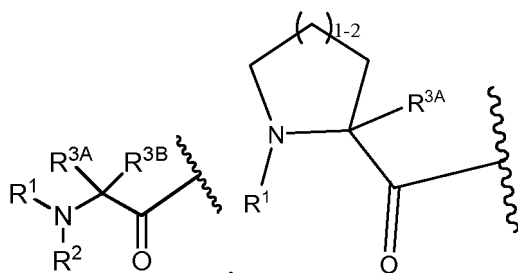
Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula IIIc:



IIIc

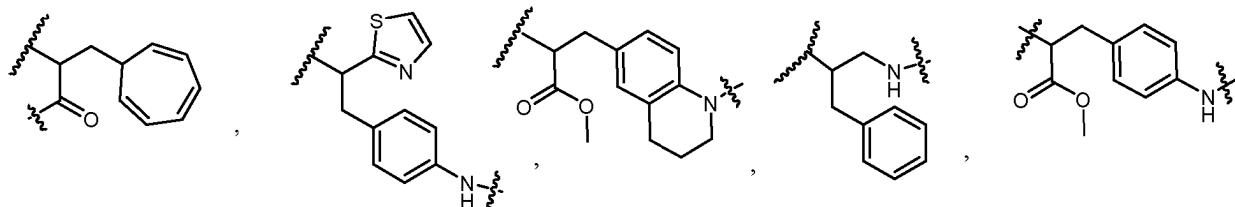
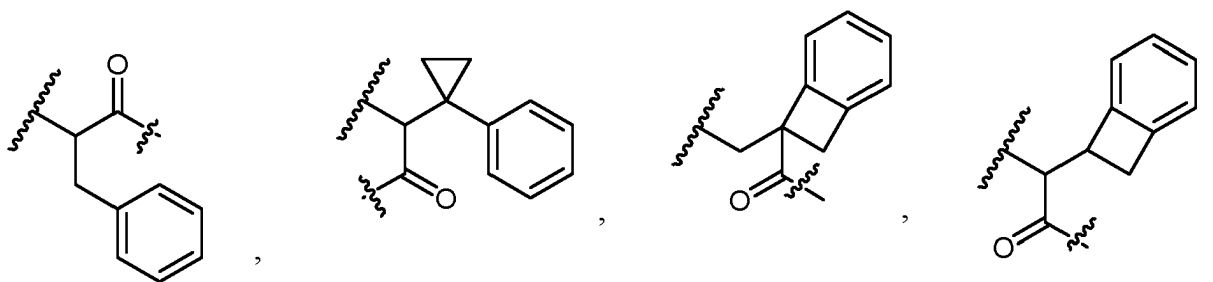
25 o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente,

W es

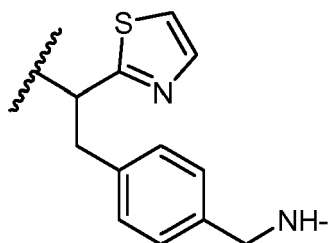


R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

- 5 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y
 R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o
 (i) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileno C₂-C₈, dicho alquileno C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono
 al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileno C₁-C₈, dicho heteroalquileno
 C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;
 10 (ii) R⁵ es

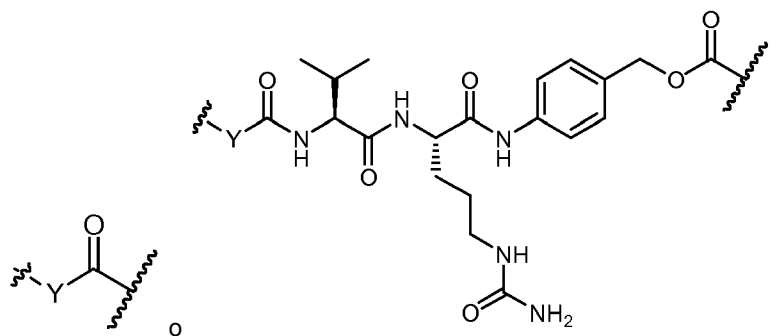


o



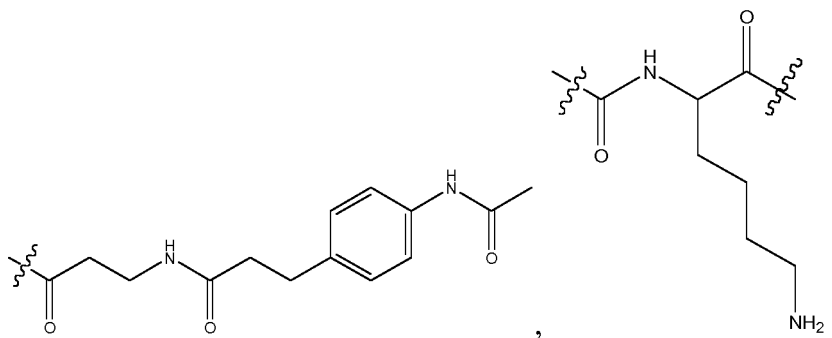
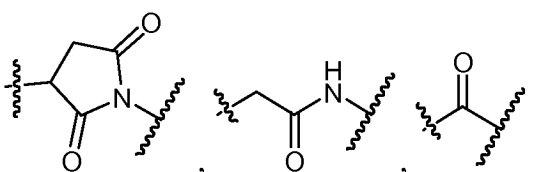
- 15 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que
 consiste en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -
 C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -
 NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que
 consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido;

R^{11'} es



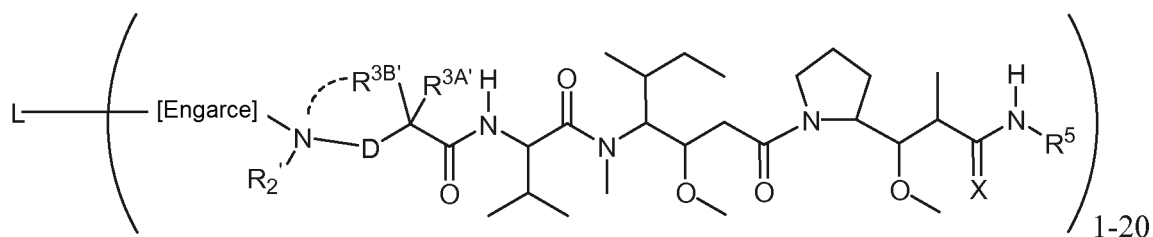
Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-; Z' es

5



o -NH-;
L es un anticuerpo;
X es O.

10 Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula **IId**:



IId

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente,

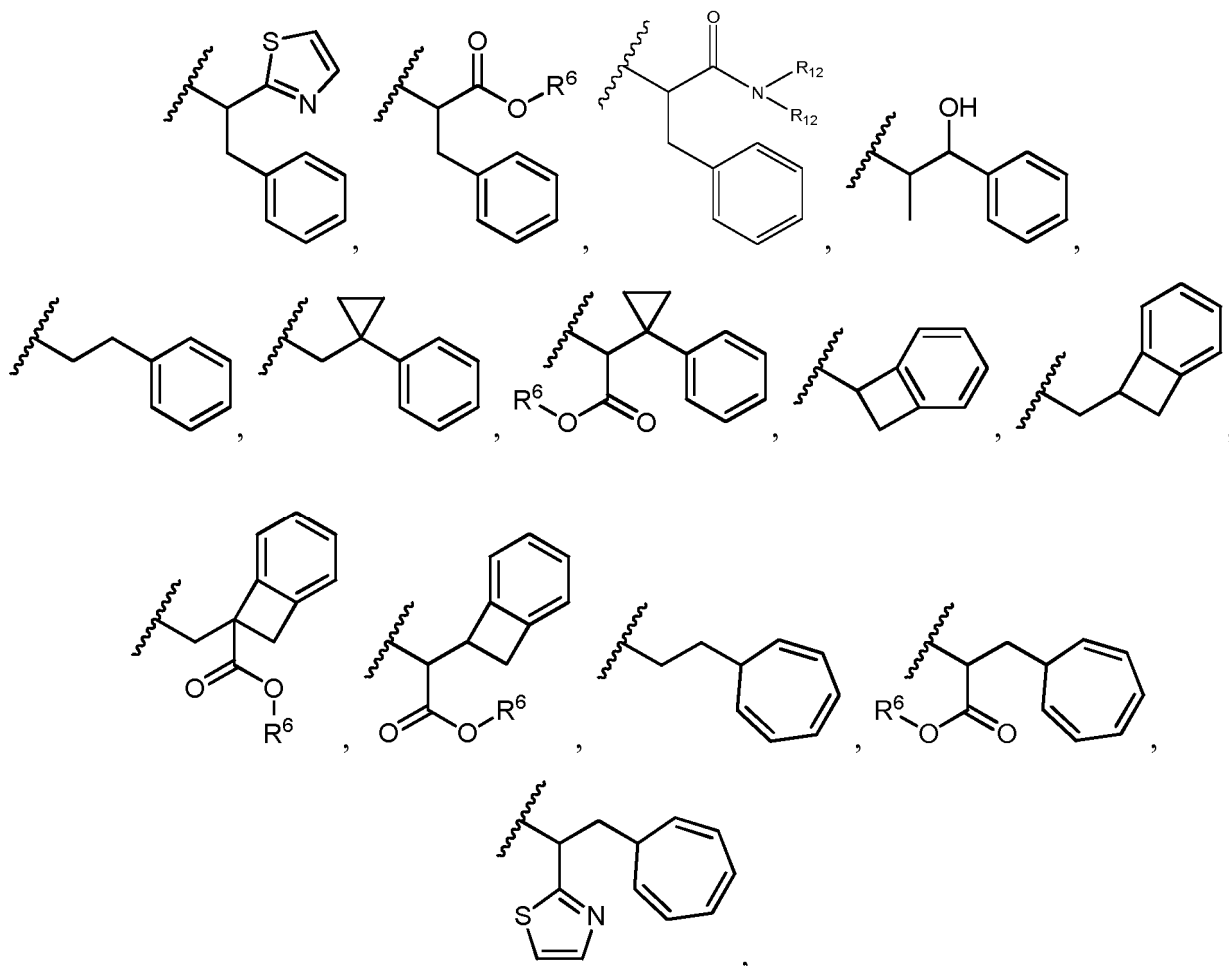
15 L es un anticuerpo;
[engarce] es un engarce divalente;
D está ausente;
R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈ o está ausente si está presente;
R^{3A'} y R^{3B'} son cualquiera de los siguientes:

20 (i) R^{3A'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y
R^{3B'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno, o R^{3B'} es alquileo C₂-C₄ y forma un anillo saturado de 5 a 6 miembros según se indica mediante; o

(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileo C_2-C_8 , dicho alquileo C_2-C_8 cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileo C_1-C_8 , dicho heteroalquileo C_1-C_8 , junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

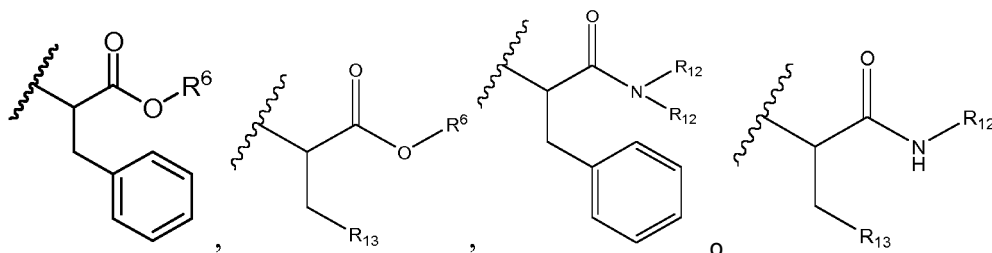
(ii)

5 R^5 es



10 heterociclilo C_1-C_{10} , carbociclilo C_3-C_8 y arilo C_6-C_{14} opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C_1-C_8 , -alquil $C_1-C_8-N(R')_2$, -alquil $C_1-C_8-C(O)R'$, -alquil $C_1-C_8-C(O)OR'$, -O-(alquilo C_1-C_8), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_1-C_8 y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, forman un heterociclilo C_1-C_{10} ;

15 o R^5 es



opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C_1-C_8 , -alquil $C_1-C_8-N(R')_2$, -alquil $C_1-C_8-C(O)R'$, -alquil $C_1-C_8-C(O)OR'$, -O-(alquilo C_1-C_8), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH,

halógeno, $-N_3$, $-N(R')_2$, $-CN$, $-NHC(=NH)NH_2$, $-NHCONH_2$, $-S(=O)_2R'$, $-SR'$ y arileno- R' , en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_1-C_8 , heterociclilo C_1-C_8 , alquilenilo C_1-C_{10} -heterociclilo C_3-C_8 y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C_1-C_{10} ;

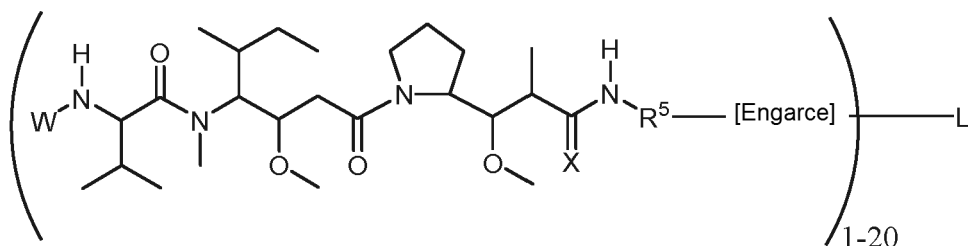
5 R^6 es hidrógeno, -alquilo C_1-C_8 , -alquenilo C_2-C_8 , -alquinilo C_2-C_8 o -haloalquilo C_1-C_8 ;

R^{12} es hidrógeno, alquilo C_1-C_4 , heterociclilo C_1-C_{10} o arilo C_6-C_{14} ;

R^{13} es heterociclilo C_1-C_{10} ; y

X es O

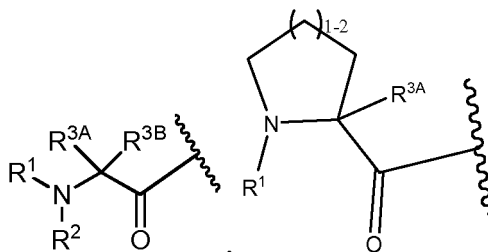
Otro aspecto de la invención se refiere un compuesto de fórmula **III d**:



III d

10 o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente,

W es



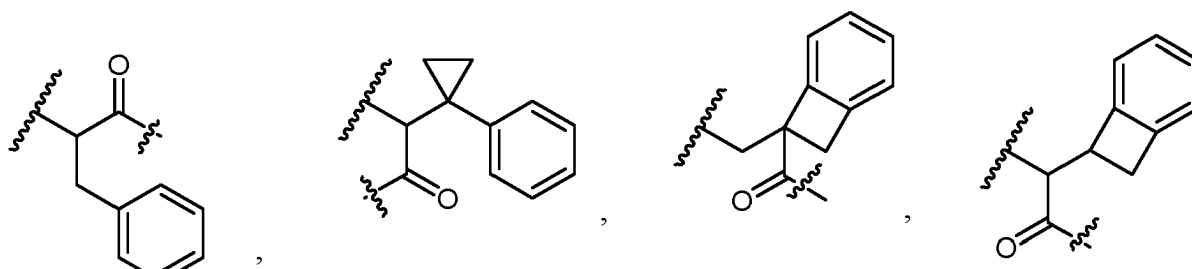
15 R^1 es hidrógeno, alquilo C_1-C_8 o haloalquilo C_1-C_8 ;

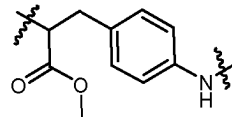
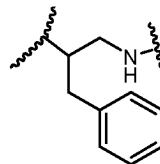
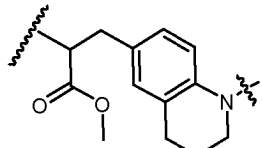
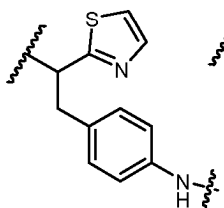
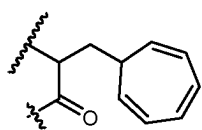
R^2 es hidrógeno, alquilo C_1-C_8 o haloalquilo C_1-C_8 ;

R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

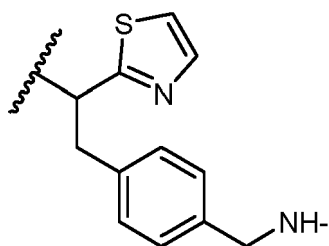
20 (i) R^{3A} es alquilo C_1-C_8 , haloalquilo C_1-C_8 , carbociclilo C_3-C_8 o halógeno; y R^{3B} es alquilo C_1-C_8 , haloalquilo C_1-C_8 , carbociclilo C_3-C_8 o halógeno; o
 (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquilenilo C_2-C_8 , dicho alquilenilo C_2-C_8 cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquilenilo C_1-C_8 , dicho heteroalquilenilo C_1-C_8 , junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

(i) R^5 es





0



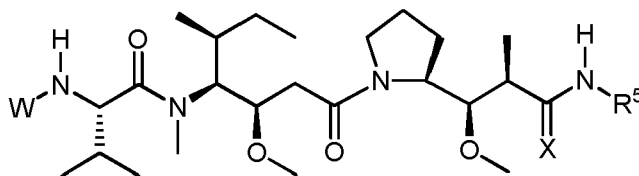
5 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR, en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido;

[engarce] es un engarce divalente;

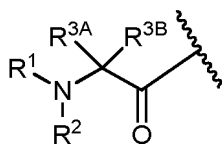
10 L es un anticuerpo;

X es O.

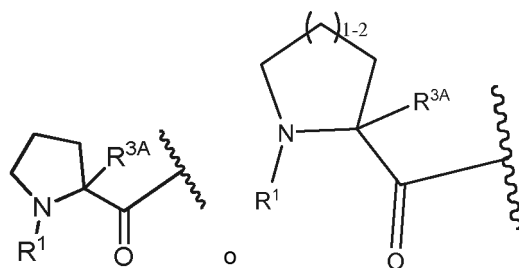
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que el compuesto está representado por



15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que W es



En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que W es



En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es hidrógeno.

5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es alquilo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es metilo.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R² es hidrógeno.

10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R² es alquilo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R² es metilo.

15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es hidrógeno; y R² es metilo.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es metilo; y R² es metilo.

20 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈ o carbociclilo C₃-C₈; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} es hidrógeno, alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno.

25 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en las que R^{3A} es halógeno.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} es alquilo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} es metilo.

30 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3B} es alquilo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3B} es metilo.

35 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3B} es isopropilo.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3B} es carbociclilo C₃-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3B} es ciclohexilo.

40 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} es alquilo C₁-C₈; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} es metilo; y R^{3B} es metilo.

5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileo C₂-C₈ o heteroalquileo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileo C₂-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son -CH₂CH₂-.

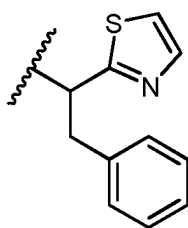
10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son -CH₂CH₂CH₂-.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son -CH₂CH₂CH₂CH₂-.

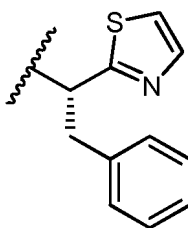
15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son heteroalquileo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son -CH₂OCH₂-.

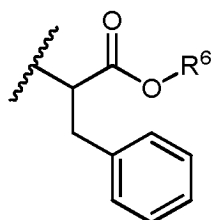
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



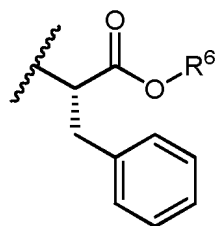
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



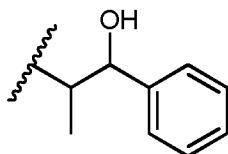
25 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



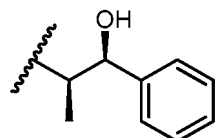
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



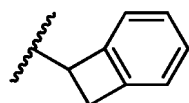
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



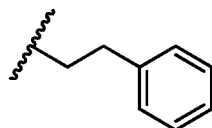
5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



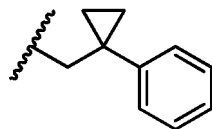
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



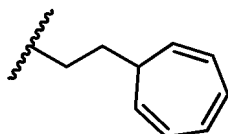
10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



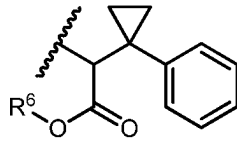
15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



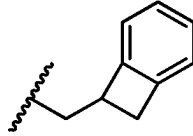
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



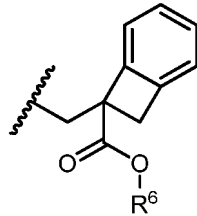
20 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



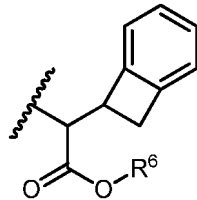
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



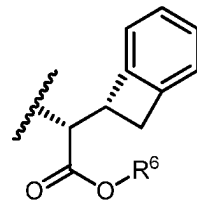
5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



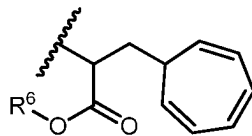
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



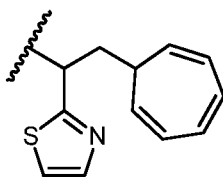
10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁵ es



En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁶ es hidrógeno.

5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁶ es alquilo C₁-C₈.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁶ es metilo.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que X es O.

10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de los mismos, y las definiciones correspondientes, en los que el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

*N*²-[(1-Aminociclopentil)carbonil]-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

15 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

20 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

*N*²-[(1-Aminociclopentil)carbonil]-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

*N*²-[(1-Aminociclopropil)carbonil]-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

25 1-Amino-*N*-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]ciclohexanocarboxamida;

2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

30 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletil)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

35 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

40 *N*²-[(3-Aminooxetan-3-il)carbonil]-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletil)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

N,2-Dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;

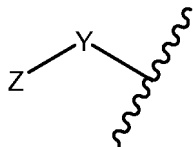
- N,2-dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N,2-Dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 5 N,2-Dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-Metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 10 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1-(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)-2-metoxi-2-oxoetil] amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(biciclo [4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il(carboxi)metil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 15 N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-((2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3 oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 20 2-metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*terc*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N,2-dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(2*S*)-1-*terc*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 25 2-metil-D-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenil-propan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 30 N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-(metilamino)-2-oxoetil] amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-2-amino-1-bencil-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-oxo-2-(propilamino)etil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- 35 N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-(dietilamino)-2-oxoetil] amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-(*terc*-butilamino)-2-oxoetil] amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- 40 N,2-dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 3-metil-D-isovalil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- 3-metil-L-isovalil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- 45 L-isovalil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida;
- D-isovalil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-

- oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida;
- 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida;
- 5 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida;
- N-[(2R,3R)-3-Metoxi-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(N-[(2S)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-L-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo;
- N-[(2R,3R)-3-Metoxi-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(N-[(2R)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-L-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo;
- 10 N-[(2R,3R)-3-metoxi-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(N-[(2S)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-L-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil]-L-fenilalanina;
- N-[(2R,3R)-3-metoxi-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(N-[(2R)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-L-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil]-L-fenilalanina;
- 15 (2S)-N-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida;
- (2R)-N-[(2S)-H[(3R,4S,5S)-1-(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida;
- 20 2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- (2S)-N-[(2S)-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida;
- 25 (2R)-N-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida;
- 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 30 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-(1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)propan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 35 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 40 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2R,4S)-4-carboxi-1-fenilpentan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-(biciclo[1,1,1]pent-1-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(1R)-2-metoxi-2-oxo-1-(1-fenilciclopropil)etil]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 45 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(1S)-2-metoxi-2-oxo-1-(1-fenilciclopropil)etil]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;
- 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1R)-1-[(7R)-biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il]-2-metoxi-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida;

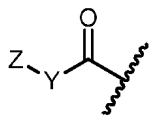
- 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-[(7S)-biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il]-2-metoxi-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 5 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-[(7R)-biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il]-2-metoxi-2-oxoetil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N,N*,2-trimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 10 *N,N*,2-trimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(R)-carboxi(1-fenilciclopropil)metil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 15 difluoro{2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(3R,4R,7S)-7-bencil-15-{2-[(3,5-dimetil-1H-pirrol-2-il-kappaN)metilideno]-2H-pirrol-5-il-kappaN}-4-metil-5,8,13-trioxo-2-oxa-6,9,12-triazapentadecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamidato}boro;
- 2-metil-D-proliil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N*-[(2R,3R)-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[(N-[(3-aminooxetan-3-il)carbonil]-L-valil](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo;
- 20 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(3R,4R,7S,12S)-7-bencil-14-[3-cloro-4-(propan-2-iloxi)fenil]-4-metil-12-[4-(8-metilimidazo[1,2-a]piridin-2-il)bencil]-5,8,14-trioxo-2,9-dioxa-6,13-diazatetradecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-[(4-(5-fluoro-1,3-benzotiazol-2-il)-2-metilfenil]amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 25 1,2-dimetil-D-proliil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-indol-3-il)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 30 *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2S)-1-oxo-3-fenil-1-(prop-2-en-1-iloxi)propan-2-il]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 2-metil-L-proliil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*terc*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 35 *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2S)-1-oxo-3-fenil-1-(1H-1,2,3-triazol-4-ilmetil)amino]propan-2-il]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2S)-1-oxo-3-fenil-1-(prop-2-in-1-ilamino)propan-2-il]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(1H-imidazol-4-il)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 40 *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-hidroxifenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1R)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 45 1,2-dimetil-L-proliil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2S)-1-oxo-3-fenil-1-(piperazin-1-il)propan-2-il]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida;
- 1,2-dimetil-L-proliil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-amino-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida; y

2-metil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida.

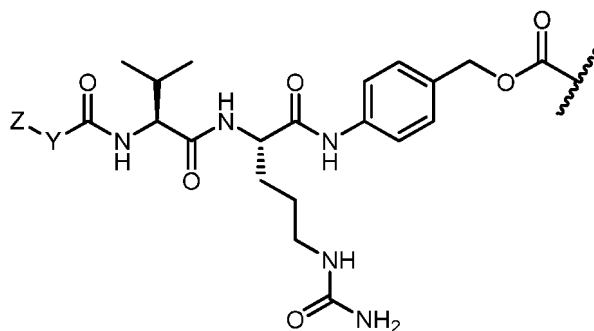
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es



5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es



10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R¹ es



En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Y es alqueno C₂-C₂₀.

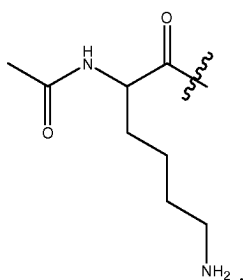
15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Y es -(CH₂)_p-; y p es 1-10.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 1. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 2. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 3. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 4. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 5. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 6. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 7. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 8. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 9. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que p es 10.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Y es heteroalqueno C₂-C₂₀.

35 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Y es -(CH₂CH₂O)_qCH₂CH₂-; y q es 1-10.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que q es 1. En determinadas realizaciones, la presente



En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁷ es F o Cl; y h es 4 o 5.

5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁷ es F; y h es 3, 4 o 5.

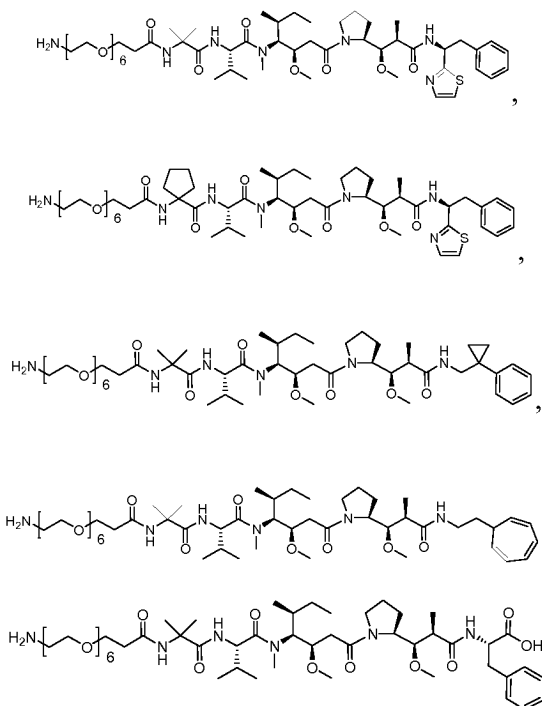
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que R⁷ es F; y h es 5.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Z es -NH₂.

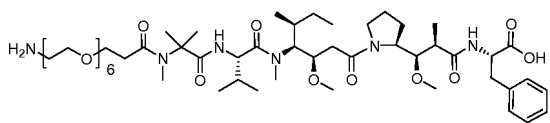
10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que G es Cl. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que G es Br. En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que G es I.

15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos de la **Tabla 18B**.

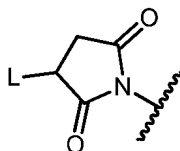
20 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:



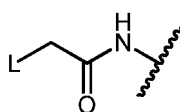
y



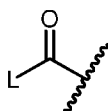
En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Z es



5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Z es

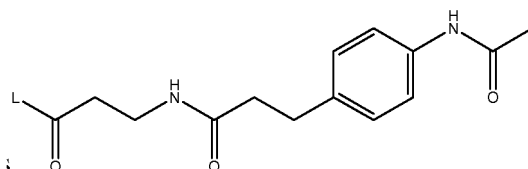


En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Z es

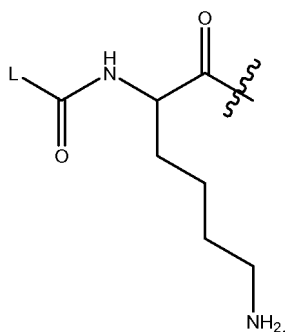


10 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Z es -NHL.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Z es



15 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que Z es



20 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos mencionados anteriormente y las definiciones correspondientes, en los que L es H(C)-.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los compuestos anteriormente mencionados y definiciones adjuntas, en las que L es un anticuerpo seleccionado de un anticuerpo murino para el tratamiento de cáncer de ovarios tales como oregovomab (OVAREX®); un anticuerpo IgG_{2a} murino para el

tratamiento de cáncer colorrectal tales como edrecolomab (PANOREX®); un anticuerpo quimérico IgG anti-EGFR para el tratamiento de cánceres positivos de factor de crecimiento epidérmico, tales como cáncer de cabeza y cuello, por ejemplo cetuximab (ERBITUX®); un anticuerpo humanizado para el tratamiento de sarcoma, tales como el Anticuerpo Monoclonal Humanizado al Receptor de Vitronectina ($\alpha_v\beta_3$) como Vitaxin®; un anticuerpo IgG₁ humanizado para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica (CLL) tales como alemtuzumab (CAMPATH I/H®); SMART ID10 que es un anticuerpo anti-HLA-DR humanizado para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; 131I Lym-1 (ONCOLYM®) que es un anticuerpo anti-HLA-Dr1O murino radiomarcado para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; un mAc anti-CD2 humanizado para el tratamiento de Enfermedad de Hodgkin o un linfoma no hodkiniano tal como ALLOMUNE®; labetuzumab (CEACIDE®) que es un anticuerpo anti-CEA humanizado para el

5
10
15

20 En otra realización específica, L incluye anticuerpos seleccionados de anticuerpos anti-I-13, incluyendo anticuerpos anti-I-13 usados en el tratamiento de cáncer, por ejemplo anticuerpos anti-IL-13R α 2.

En todavía otra realización específica, L incluye anticuerpos seleccionados de anticuerpos anti-Notch, incluyendo anticuerpos anti-Notch usados en el tratamiento de cáncer.

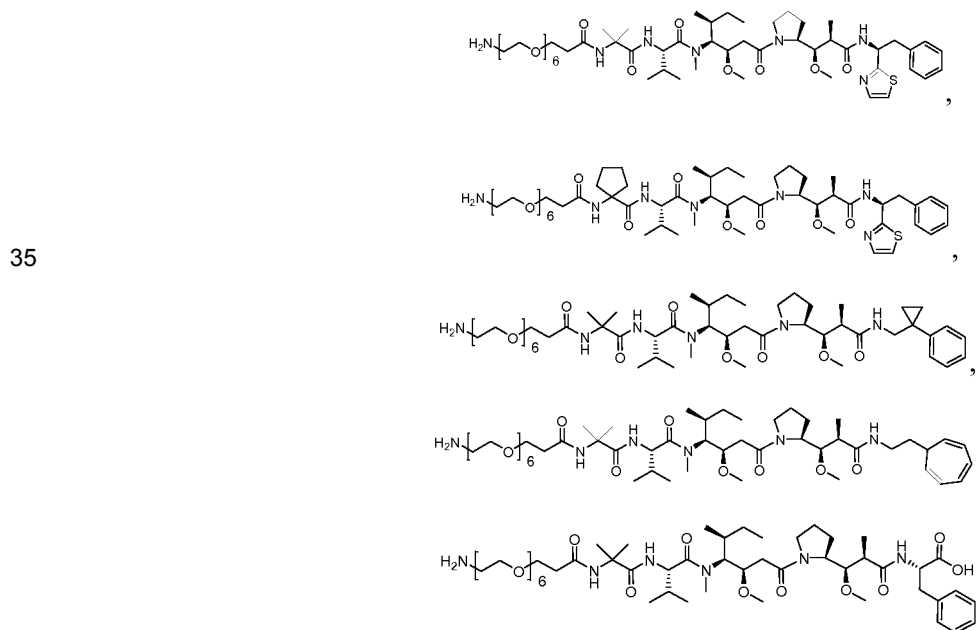
25 En determinadas realizaciones, el anticuerpo L se une al engarce a través de un enlace sulfuro o a través de un enlace sulfuro-sulfuro.

Otro aspecto de la invención se refiere a un conjugado fármaco anticuerpo que comprende cualquiera de los compuestos anteriormente mencionados.

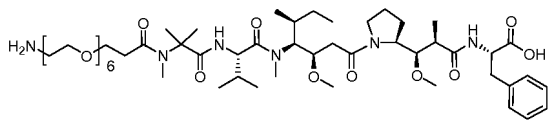
Otro aspecto de la invención se refiere a un conjugado fármaco anticuerpo que comprende un anticuerpo y uno cualquiera de los compuestos anteriormente mencionados.

30 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los conjugados fármaco anticuerpo anteriormente mencionados y definiciones adjuntas, en los que el compuesto se une covalentemente al anticuerpo.

En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los conjugados anticuerpo fármaco anteriormente mencionados y definiciones adjuntas, en los que en dicho conjugado fármaco anticuerpo se selecciona del grupo que consiste en los compuestos de la Tabla 18B



y



En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los conjugados anticuerpo fármaco anteriormente mencionados y definiciones adjuntas, en los que el conjugado fármaco anticuerpo comprende entre 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 compuestos de la invención.

- 5 En determinadas realizaciones, la presente invención se refiere a cualquiera de los conjugados fármaco anticuerpo anteriormente mencionados y definiciones adjuntas, en los que el conjugado fármaco anticuerpo comprende 3 o 4 compuestos de la invención.

La unidad de anticuerpo (Ac)

- 10 Como se ha indicado anteriormente, el término "anticuerpo" (o "Ac") en el presente documento se usa en el sentido más amplio y específicamente abarca anticuerpos monoclonales intactos, anticuerpos policlonales, anticuerpos mono-específicos, anticuerpos multispecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos) y fragmentos de anticuerpo que exhiben la actividad biológica deseada. Además, aunque ciertos aspectos de la invención descritos en el presente documento se refieren a conjugados fármaco anticuerpo, se prevé además que la porción del anticuerpo del conjugado pueda reemplazarse por cualquier cosa que se una específicamente o se asocie reactivamente o se compleje con un receptor, un antígeno u otro resto receptivo asociado a una población celular diana dada. Por ejemplo, en lugar de contener un anticuerpo un conjugado de la invención podría contener una molécula que marque como diana que se une a, compleja con o reacciona con un receptor, un antígeno u otro resto receptor de una población buscado ser terapéuticamente o de otra forma biológicamente modificado. Los ejemplos de tales moléculas incluyen proteínas de menor peso molecular, polipéptidos o péptidos, lectinas, glucoproteínas, distintos de péptidos, vitaminas, moléculas transportadoras de nutrientes (tales como, pero no limitadas a, transferrina) o cualquier otra molécula o sustancias de unión a células. En ciertos aspectos, el anticuerpo u otra de dichas moléculas de marcaje como diana actúan transportando un fármaco a la población de células diana particular con la que interactúa el anticuerpo u otra molécula de marcaje como diana.

- 15 Los heteroátomos que pueden estar presentes en una unidad de anticuerpo incluyen azufre (en una realización, de un grupo sulfhidrilo de un anticuerpo), oxígeno (en una realización, de un grupo carbonilo, carboxilo o hidroxilo de un anticuerpo) y nitrógeno (en una realización, de un grupo amino primario o secundario de un anticuerpo). Estos heteroátomos pueden estar presentes en el anticuerpo en el estado natural del anticuerpo, por ejemplo un anticuerpo de origen natural, o puede introducirse en el anticuerpo a través de modificación química.

- 20 En una realización, una unidad de anticuerpo tiene un grupo sulfhidrilo y la unidad de anticuerpo se une a través del átomo de azufre del grupo sulfhidrilo.

En otra realización, el anticuerpo tiene restos de lisina que pueden reaccionar con ésteres activados (dichos ésteres incluyen, pero no se limitan a, ésteres de *N*-hidrosuccinimida, de pentafluorofenilo y de *p*-nitrofenilo) y de esta manera forman un enlace amida que consiste en el átomo de nitrógeno de la unidad de anticuerpo y un carbonilo.

- 25 En otro aspecto más, la unidad de anticuerpo tiene uno o más restos de lisina que pueden modificarse químicamente para introducir uno o más grupos sulfhidrilo. Los reactivos que pueden usarse para modificar lisinas incluyen, pero no se limitan a, *S*-acetiltioacetato de *N*-succinimidilo (SATA) y clorhidrato de 2-iminotiolano (Reactivo de Traut).

En otra realización, la unidad de anticuerpo puede tener uno o más grupos carbohidrato que pueden modificarse químicamente para tener uno o más grupos sulfhidrilo.

- 30 En otra realización más, la unidad de anticuerpo puede tener uno o más grupos carbohidrato que pueden oxidarse para proporcionar un grupo aldehído (véase, por ejemplo, Laguzza, y col., 1989, J. Med. Chem. 32(3):548-55). El aldehído correspondiente puede formar un enlace con un sitio reactivo tal como, por ejemplo, hidrazina e hidroxilamina. Otros protocolos para la modificación de proteínas para la fijación o asociación de fármacos se describen en Coligan y col., Current Protocols in Protein Science, vol. 2, John Wiley & Sons (2002) (incorporado en el presente documento por referencia).

- 35 Cuando los conjugados comprenden proteínas no inmunorreactivas, polipéptidos o unidades peptídicas en lugar de un anticuerpo, las proteínas no inmunorreactivas, los polipéptidos o unidades peptídicas útiles incluyen, pero no se limitan a, transferrina, factores de crecimiento epidérmico ("EGF"), bombesina, gastrina, péptido liberador de gastrina, factor de crecimiento derivado de plaquetas, IL-2, IL-6, factores de crecimiento transformante ("TOP"), tales como TGF- α y TGF- β , factor de crecimiento de vaccinia ("VGF"), factores de crecimiento de insulina y tipo insulina I y II, somatostatina, lectinas y apoproteína de lipoproteína de baja densidad.

40 Los anticuerpos policlonales útiles son poblaciones heterogéneas de moléculas de anticuerpo derivadas de los sueros de animales inmunizados. Los anticuerpos monoclonales útiles son poblaciones homogéneas de anticuerpos para un determinante antigénico particular (por ejemplo, un antígeno de célula cancerosa, un antígeno vírico, un

antígeno microbiano, una proteína, un péptido, un carbohidrato, un químico, un ácido nucleico, o fragmentos de los mismos). Un anticuerpo monoclonal (mAc) para un antígeno de interés puede prepararse usando cualquier técnica conocida en la técnica que proporcione la producción de moléculas de anticuerpo por líneas celulares continuas en cultivo.

5 Los anticuerpos monoclonales útiles incluyen, pero no se limitan a, anticuerpos monoclonales humanos, anticuerpos monoclonales humanizados, fragmentos de anticuerpo o anticuerpos monoclonales quiméricos. Los anticuerpos monoclonales humanos pueden fabricarse por cualquiera de numerosas técnicas conocidas en la materia (por ejemplo, Teng y col., 1983, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 80:7308-7312; Kozbor y col., 1983, Immunology Today 4:72-79; y Olsson y col., 1982, Meth. Enzymol. 92:3-16).

10 El anticuerpo también puede ser un anticuerpo específico. Los procedimientos para fabricar anticuerpos biespecíficos se conocen en la técnica se analizan a continuación.

El anticuerpo puede ser un fragmento funcionalmente activo, un derivado o análogo de un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente a células diana (por ejemplo, antígenos de células cancerosas, antígenos víricos o antígenos antimicrobianos) u otros anticuerpos que se unen a las células tumorales o a la matriz. A este respecto, "funcionalmente activo" significa que el fragmento, el derivado o el análogo es capaz de provocar anticuerpos anti-idiotipo que reconocen el mismo antígeno que el anticuerpo del que el fragmento, el derivado o el análogo se reconoce derivado. Específicamente, en una realización ejemplar la antigenicidad del idiotipo de la molécula de inmunoglobulina puede potenciarse por la eliminación de las secuencias marco y CDR que son C-terminales a la secuencia CDR que reconoce específicamente el antígeno. Para determinar qué secuencias CDR se unen al antígeno, pueden usarse péptidos sintéticos que contienen secuencias CDR en ensayos de unión con el antígeno por cualquier procedimiento de ensayo de unión conocido en la técnica (por ejemplo, el ensayo BIA core) (para la localización de las secuencias CDR véase, por ejemplo, Kabat y col., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, Quinta edición, National Institutes of Health, Bethesda, Md. Kabat E y col., 1980, J. Immunology 125(3):961-969).

25 Otros anticuerpos útiles incluyen fragmentos de anticuerpos tales como, pero no limitado a, fragmentos F(ab')₂, fragmentos Fab, Fv, anticuerpos monocatenarios, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, scFv, scFv-Fv o cualquier otra molécula con la misma especificidad que el anticuerpo.

Además, anticuerpos recombinantes, tales como anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados, que comprenden porciones tanto humanas como no humanas, que pueden fabricarse usando técnicas de ADN recombinante convencionales, son anticuerpos útiles. Un anticuerpo quimérico es una molécula en la que diferentes porciones derivan de diferentes especies animales, tales como por ejemplo, aquellos que tienen una región variable derivada de regiones constantes de una inmunoglobulina monoclonal murina y una humana. (Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 4.816.567; y la patente de EE.UU. n.º 4.816.397, que se incorporan en el presente documento por referencia en su totalidad). Los anticuerpos humanizados son moléculas de anticuerpo de especies no humanas que tienen una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) de la especie no humana y una región marco de una molécula de inmunoglobulina humana. (Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. n.º 5.585.089, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad). Dichos anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados pueden producirse por técnicas de ADN recombinante conocidas en la técnica, por ejemplo usando procedimientos descritos en la Publicación Internacional n.º WO 87/02671; la Publicación de Patente Europea n.º 0 184 187; la Publicación de Patente Europea n.º 0 171 496; la Publicación de Patente Europea n.º 0 173 494; la Publicación Internacional n.º WO 86/01533; la patente de EE.UU. n.º 4.816.567; la Publicación de Patente Europea n.º 012 023; Berter y col., 1988, Science 240:1041-1043; Liu y col., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 84:3439-3443; Liu y col., 1987, J. Immunol. 139:3521-3526; Sun y col., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 84:214-218; Nishimura y col., 1987, Cancer. Res. 47:999-1005; Wood y col., 1985, Nature 314:446-449; y Shaw y col., 1988, J. Natl. Cancer Inst. 80:1553-1559; Morrison, 1985, Science 229:1202-1207; Oi y col., 1986, BioTechniques 4:214; la patente de EE.UU. n.º 5.225.539; Jones y col., 1986, Nature 321:552-525; Verhoeyan y col., 1988, Science 239:1534; y Beidler y col., 1988, J. Immunol. 141:4053-4060; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

Los anticuerpos completamente humanos son particularmente deseables y pueden producirse usando ratones transgénicos que son incapaces de expresar genes de cadenas pesada y ligera de inmunoglobulinas endógenas, pero que pueden expresar genes de cadenas pesada y ligera humanas. Los ratones transgénicos se inmunizan de forma normal con un antígeno seleccionado, por ejemplo, todos o una porción de un polipéptido de la invención. Los anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno pueden obtenerse usando tecnología de hibridoma convencional. Los transgenes de inmunoglobulina humana albergados por los ratones transgénicos se redisponen durante la diferenciación de los linfocitos B y posteriormente se someten a cambio de clase y mutación somática. Por lo tanto, usando dicha técnica, es posible producir anticuerpos IgG, IgA, IgM e IgE terapéuticamente útiles. Para una visión global de esta tecnología para anticuerpos humanos, véase Lonberg y Huszar, 1995, Int. Rev. Immunol. 13:65-93. Para una discusión detallada de esta tecnología para producir anticuerpos humanos y anticuerpos monoclonales humanos y protocolos para producir dichos anticuerpos, véase, por ejemplo, las patentes de EE.UU. n.º 5.625.126; 5.633.425; 5.569.825; 5.661.016; 5.545.806; cada uno de los cuales se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad. Otros anticuerpos humanos pueden obtenerse en el mercado de, por

ejemplo, Abgenix, Inc. (now Amgen, Fremont, Calif.) y Medarex (Princeton, N.J.).

Los anticuerpos completamente humanos que reconocen un epítipo seleccionado pueden generarse usando una técnica denominada "selección guiada". En este enfoque un anticuerpo monoclonal no humano seleccionado, por ejemplo, un anticuerpo de ratón, se use para guiar la selección de un anticuerpo completamente humano que reconoce el mismo epítipo. (Véase, por ejemplo, Jaspers y col., 1994, *Biotechnology* 12:899-903). Los anticuerpos humanos pueden producirse usando diversas técnicas conocidas en la técnica, incluyendo bibliotecas de visualización de fagos (véase, por ejemplo, Hoogenboom y Winter, 1991, *J. Mol. Biol.* 227:381; Marks y col., 1991, *J. Mol. Biol.* 222:581; Quan y Carter, 2002, *The rise of monoclonal antibodies as therapeutics*, en *Anti-IgE and Allergic Disease*, Jardieu y Fick, eds., Marcel Dekker, Nueva York, N.Y., Capítulo 20, págs. 427-469).

En otras realizaciones, el anticuerpo es una proteína de fusión de un anticuerpo o un fragmento funcionalmente activo del mismo, por ejemplo en el que el anticuerpo se condensa a través de un enlace covalente (por ejemplo un enlace peptídico), bien en el *N*-terminal o el *C*-terminal de una secuencia de aminoácidos de otra proteína (o una porción de la misma, preferentemente al menos una porción de 10, 20 o 50 aminoácidos de la proteína) que no es de un anticuerpo. Preferentemente, el anticuerpo o el fragmento del mismo se une covalentemente a la otra proteína en el *N*-terminal del dominio constante.

Los anticuerpos incluyen análogos y derivados que están ya sea modificados, es decir, por la fijación covalente de cualquier tipo de molécula siempre que tal fijación covalente permita que el anticuerpo retenga su inmunoespecificidad de unión a antígeno. Por ejemplo, pero no a modo de limitación, los derivados y análogos de los anticuerpos incluyen aquellos que se han modificado adicionalmente, por ejemplo, por glucosilación, acetilación, pegilación, fosforilación, amidación, derivatización por grupos protectores/bloqueantes conocidos, escisión proteolítica, unión a una unidad de anticuerpo celular u otra proteína, etc. Cualquiera de numerosas modificaciones químicas puede llevarse a cabo por técnicas conocidas incluyendo, pero no limitado a, escisión química específica, acetilación, formilación, síntesis metabólica en presencia de tunicamicina, etc. Adicionalmente, el análogo o el derivado puede contener uno o más aminoácidos no naturales.

Los anticuerpos pueden tener modificaciones (por ejemplo, sustituciones, eliminaciones o adiciones) en restos de aminoácidos que interactúan con receptores Fc. En particular, los anticuerpos pueden tener modificaciones en los restos de aminoácidos identificados como implicados en la interacción entre el dominio anti-Fc y el receptor FcRn (véase, por ejemplo, la Publicación Internacional n.º WO 97/34631, que se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad).

Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa pueden obtenerse en el mercado o producirse por cualquier procedimiento conocido por un experto en la materia tales como, por ejemplo, síntesis química o técnicas de expresión recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerosa puede obtenerse, por ejemplo, de la base de datos GenBank o una base de datos como ella, publicaciones de bibliografía o por clonación y secuenciación rutinarias.

En una realización específica, pueden usarse anticuerpos conocidos para el tratamiento de cáncer. Los anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerígena pueden obtenerse en el mercado o producirse por cualquier procedimiento conocido por un experto en la materia tales como, por ejemplo, técnicas de expresión recombinante. La secuencia de nucleótidos que codifica anticuerpos inmunoespecíficos para un antígeno de célula cancerígena puede obtenerse, por ejemplo, de la base de datos GenBank o una base de datos como ella, publicaciones de bibliografía o por clonación y secuenciación rutinarias. Los ejemplos de anticuerpos disponibles para el tratamiento del cáncer incluyen, pero no se limitan a, OVAREX® que es un anticuerpo murino para el tratamiento de cáncer de ovarios; PANOREX® (Glaxo Wellcome, NC) que es un anticuerpo IgG_{2a} murino para el tratamiento de cáncer colorrectal; Cetuximab ERBITUX® (Imclone Systems Inc., NY) que es un anticuerpo quimérico IgG anti-EGFR para el tratamiento de cánceres positivos de factor de crecimiento epidérmico, tales como cáncer de cabeza y cuello; Vitaxin® (MedImmune, Inc., MD) que es un anticuerpo humanizado para el tratamiento de sarcoma; CAMPATH 1/H® (Leukosite, MA) que es un anticuerpo IgG₁ humanizado para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica (CLL); SMART ID10 (Protein Design Labs, Inc., CA) que es un anticuerpo anti-HLA-DR humanizado para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; ONCOLYM® (Techniclone, Inc., CA) que es un anticuerpo anti-HLA-DrlO murino radiomarcado para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; ALLOMUNE® (BioTrasplant, CA) que es un mAb anti-CD2 humanizado para el tratamiento de Enfermedad de Hodgkin o un linfoma no hodkiniano; CEACIDE® (Immunomedics, NJ) que es un anticuerpo anti-CEA humanizado para el cáncer colorrectal; AVASTIN® (Genentech/Roche, CA) que es un mAb anti-VEGF-A humanizado para el tratamiento de cáncer de cerebro, de colon, de riñón o de pulmón; ZEVALIN® (Spectrum Pharmaceuticals, NV) que es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; ARZERRA® (GSK, UK) que es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 humano para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica; VECTIBIX® (Amgen, CA) que es un anticuerpo monoclonal anti-EGFR humano para el tratamiento de cáncer de colon; RITUXAN® (Genentech/BioGen, CA) que es un anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD20 para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica y linfoma no hodkiniano; BEXXAR® (GSK, UK) que es un anticuerpo monoclonal anti-CD20 para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; HERCEPTIN® (Genentech, CA) que es un anticuerpo monoclonal anti-receptor HER2 para el tratamiento de cáncer de mama y de estómago; YERVOY® (BMS, NJ) que es un anticuerpo monoclonal humano anti-CTLA4 para el tratamiento de melanoma; MYLOTARG® (Wyeth/Pfizer, NY) que es un anticuerpo monoclonal

humanizado anti-CD33 conjugado a calicheamicina para el tratamiento de leucemia mielógena aguda; y inotuzumab ozogamicin (Wyeth/Pfizer, NY) que es un anticuerpo monoclonal humanizado anti-CD22 conjugado a calicheamicina para el tratamiento de leucemia linfocítica crónica y linfoma no hodkiniano.

5 En otra realización específica, pueden usarse anticuerpos anti-IL13, incluyendo anticuerpos anti-IL13 usados en el tratamiento de cáncer.

En otra realización específica, pueden usarse anticuerpos anti-Notch, incluyendo anticuerpos anti-Notch usados en el tratamiento de cáncer.

10 En intentos para descubrir dianas celulares eficaces para terapia y diagnóstico del cáncer, los investigadores han tratado de identificar los polipéptidos transmembrana o asociados con tumores que se expresan específicamente en la superficie de uno o más tipos particulares de células cancerosas en comparación con una o más células no cancerosas normales. A menudo, estos polipéptidos asociados a tumores se expresan más abundantemente en la superficie de las células cancerosas que en la superficie de las células no cancerosas. La identificación de tales antígenos polipéptidos de superficie celular asociados a tumores ha dado lugar a la capacidad de dirigirse específicamente a las células cancerosas para su destrucción mediante terapias basadas en anticuerpos.

15 **Síntesis de compuestos y conjugados de anticuerpo fármaco de los mismos**

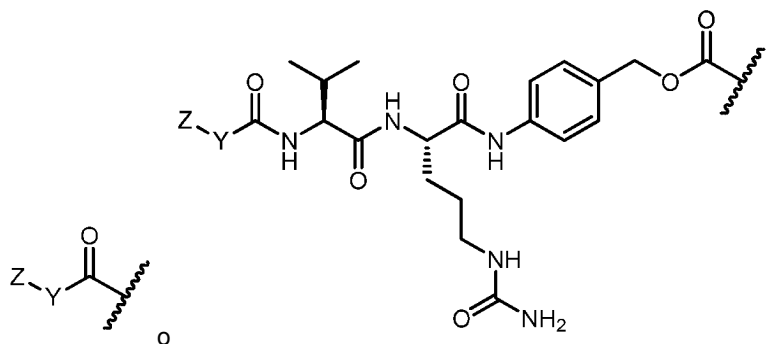
Los compuestos y conjugados de la invención pueden prepararse usando los procedimientos sintéticos indicados más adelante en los Ejemplos.

Como se describe con mayor detalle más adelante, los compuestos y conjugados de la invención pueden prepararse usando una sección de una unidad de engarce que tiene un sitio reactivo para unión al compuesto.

20 **Engarce**

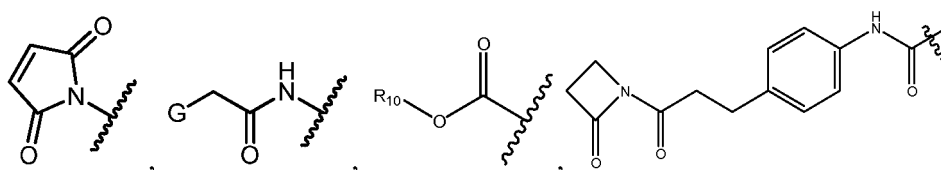
Un engarce (denominado algunas veces en el presente documento como "[engarce]") es un compuesto bifuncional que puede usarse para conectar un fármaco y un anticuerpo para formar un conjugado de anticuerpo fármaco (ADC). Tales conjugados son útiles, por ejemplo, en la formación de inmunoconjugados dirigidos contra antígenos tumorales asociados. Tales conjugados permiten la entrega selectiva de fármacos citotóxicos a las células tumorales.

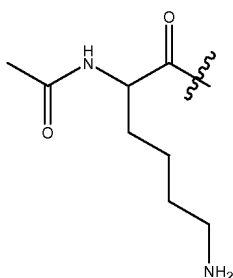
En una realización, el engarce tiene la fórmula: es



en la que

30 Y es alquilenos C₂-C₂₀ o heteroalquilenos C₂-C₂₀; carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀;
Z es





o -NH₂;

R⁷ se selecciona independientemente cada vez que aparece entre el grupo que consiste en F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;

5 R¹⁰ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₁₀, -carbociclo C₃-C₈, arilo, -heteroalquilo C₁-C₁₀, -heterociclo C₃-C₈, -alquilen C₁-C₁₀-arilo, -arileno-alquilo C₁-C₁₀, -alquileno C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈), -(carbociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈) y -(heterociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, en los que el arilo en los R₁₀ que comprenden arilo está opcionalmente sustituido con [R₇]_h; y h es 1, 2, 3, 4 o 5.

10 En un ADC el engarce sirve para unir la carga útil al anticuerpo.

En un aspecto, se introduce una segunda sección de unidad de engarce que tiene un segundo sitio reactivo, por ejemplo, un grupo electrófilo que es reactivo a un grupo nucleófilo presente en una unidad de anticuerpo (por ejemplo, un anticuerpo). Los grupos nucleófilos útiles en un anticuerpo incluyen, pero sin limitación, grupos sulfhidrido, hidroxilo y amino. El heteroátomo del grupo nucleófilo de un anticuerpo es reactivo a un grupo electrófilo en una unidad de engarce y forma un enlace covalente a una unidad de engarce. Los grupos electrófilos útiles incluyen, pero sin limitación, grupos maleimida y haloacetamida. El grupo electrófilo proporciona un sitio conveniente para la unión de anticuerpo.

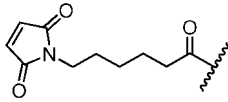
20 En otra realización, una unidad de engarce tiene un sitio reactivo que tiene un grupo nucleófilo que es reactivo a un grupo electrófilo presente en un anticuerpo. Los grupos electrófilos útiles en un anticuerpo incluyen, pero sin limitación, grupos aldehído y cetona carbonilo. El heteroátomo de un grupo nucleófilo de una unidad de engarce puede reaccionar con un grupo electrófilo en un anticuerpo y forma un enlace covalente al anticuerpo. Los grupos nucleófilos útiles en una unidad de engarce incluyen, pero sin limitación, hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiosemicarbazona, carboxilato de hidrazina y arilhidrazida. El grupo electrófilo en un anticuerpo proporciona un sitio conveniente para la unión a una unidad de engarce.

25 Los grupos funcionales amino también son sitios reactivos útiles para una unidad de engarce puesto que pueden reaccionar con ácido carboxílico, o ésteres activados de un compuesto para formar un engarce de amida. Típicamente, Los compuestos basados en péptidos de la invención pueden prepararse formando un enlace de péptidos entre dos o más fragmentos de aminoácidos y/o péptidos. Tales enlaces de péptidos pueden prepararse, por ejemplo, de acuerdo con el procedimiento de síntesis en fase líquida (véase, por ejemplo, Schroder y Lubke, "The Peptides", volumen 1, pp 76-136, 1965, Academic Press) que es bien conocido en el campo de la química de péptidos.

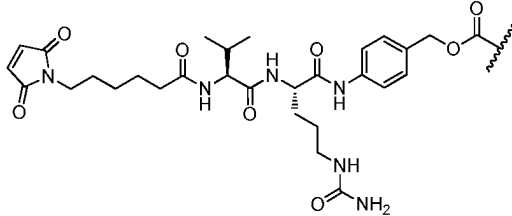
30 Como se describe con mayor detalle más adelante, los conjugados pueden prepararse usando una sección del engarce que tiene un sitio reactivo para unión a un compuesto de la invención e introduciendo otra sección de la unidad de engarce que tiene un sitio reactivo para un anticuerpo. En un aspecto, una unidad de engarce tiene un sitio reactivo que tiene un grupo electrófilo que es reactivo con un grupo nucleófilo presente en una unidad de anticuerpo, tal como un anticuerpo. El grupo electrófilo proporciona un sitio conveniente para la unión de anticuerpo. Los grupos nucleófilos útiles en un anticuerpo incluyen, pero sin limitación, grupos sulfhidrido, hidroxilo y amino. El heteroátomo del grupo nucleófilo de un anticuerpo es reactivo a un grupo electrófilo en una unidad de Engarce y forma un enlace covalente a una unidad de engarce. Los grupos electrófilos útiles incluyen, pero sin limitación, grupos maleimida y haloacetamida.

45 En otra realización, una unidad de engarce tiene un sitio reactivo que tiene un grupo nucleófilo que es reactivo con un grupo electrófilo presente en una unidad de anticuerpo. El grupo electrófilo en un anticuerpo proporciona un sitio conveniente para la unión a una unidad de engarce. Los grupos electrófilos útiles en un anticuerpo incluyen, pero sin limitación, grupos aldehído y cetona carbonilo. El heteroátomo de un grupo nucleófilo de una unidad de engarce puede reaccionar con un grupo electrófilo en un anticuerpo y forma un enlace covalente al anticuerpo. Los grupos nucleófilos útiles en una unidad de engarce incluyen, pero sin limitación, hidrazida, oxima, amino, hidrazina, tiosemicarbazona, carboxilato de hidrazina y arilhidrazida.

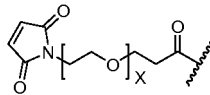
Como se usa en el presente documento, "mc-" conocido previamente como "MaC-" se refiere a



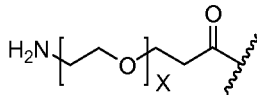
Como se usa en el presente documento, "mcValCitPABC-" conocido previamente como "MalCValCitPABC-" se refiere a



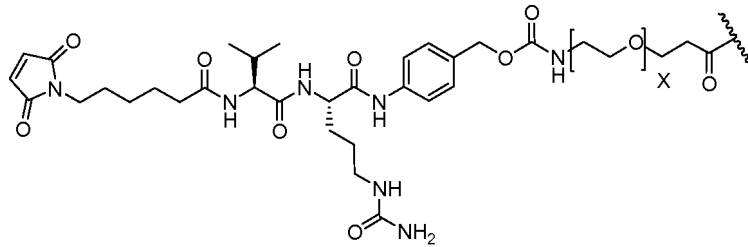
5 Como se usa en el presente documento, "MalPegXC2-" se refiere a



Como se usa en el presente documento, "AmPegXC2-" se refiere a

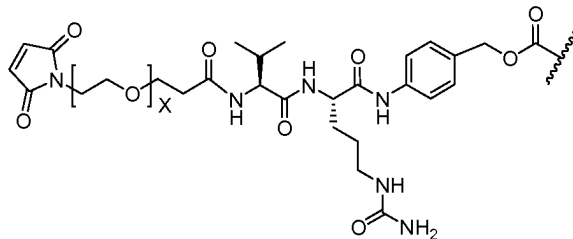


Como se usa en el presente documento, "mcValCitPABCAmPegXC2-" se refiere a

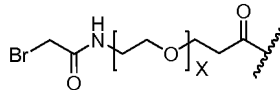


10

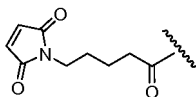
Como se usa en el presente documento, "MalPegXC2ValCitPABC-" se refiere a



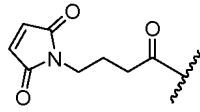
Como se usa en el presente documento, "2BrAcPegXC2" se refiere a



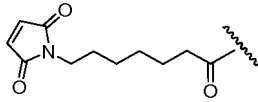
15 Como se usa en el presente documento, "mv-" se refiere a



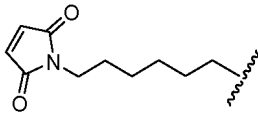
Como se usa en el presente documento, "mb-" se refiere a



Como se usa en el presente documento, "me-" se refiere a

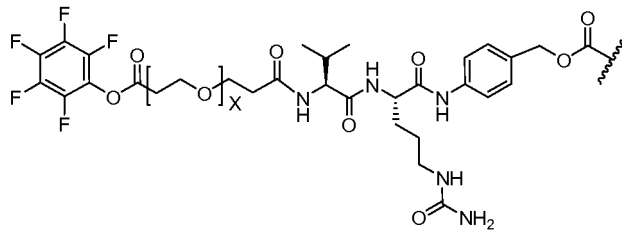


Como se usa en el presente documento, "MalC6-" se refiere a

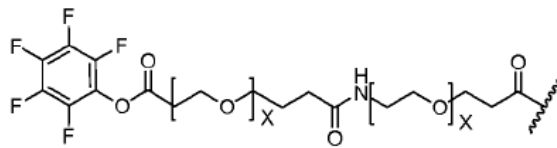


5

Como se usa en el presente documento, "PFPCOPegXC2ValCitPABC-" se refiere a

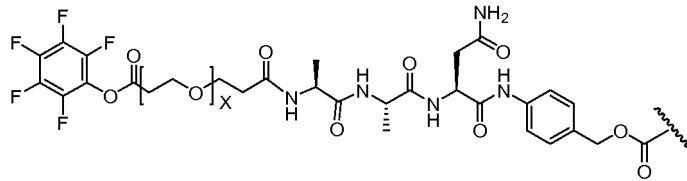


Como se usa en el presente documento, "PFPCOPegXC2AmPegYC2-" se refiere a

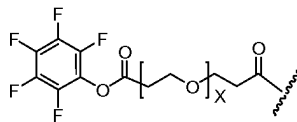


10

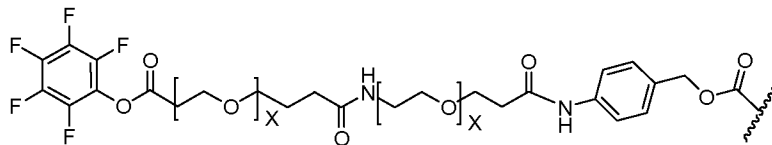
Como se usa en el presente documento, "PFPCOPegXC2AlaAlaAsnPABC-" se refiere a



Como se usa en el presente documento, "PFPCOPegXC2-" se refiere a

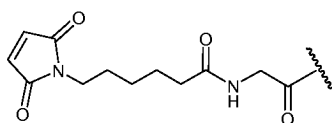


Como se usa en el presente documento, "PFPCOPegXC2AmPegYC2PABC-" se refiere a

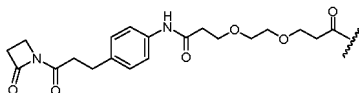


15

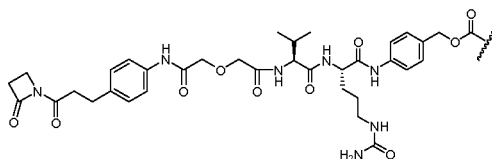
Como se usa en el presente documento, "mcGly-" se refiere a



Como se usa en el presente documento, "AzCOC2Ph4AmCOPeg2C2-" se refiere a

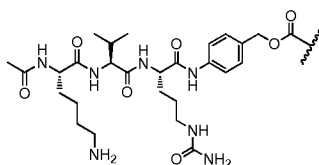


Como se usa en el presente documento, "AzCOC2Ph4AmPeg1C1-" se refiere a



5

Como se usa en el presente documento, "AcLysValCitPABC-" se refiere a



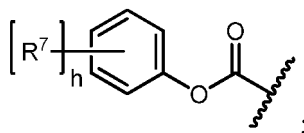
Conjugación con Transglutaminasa

En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención puede reticularse covalentemente a un polipéptido que contiene Fc o que contiene Fab diseñado por ingeniería genética con una etiqueta que contiene glutamina donadora (por ejemplo, etiquetas peptídicas que contienen Gln o etiquetas Q) o una glutamina endógena hecha reactiva (es decir, la capacidad de formar un enlace covalente como un donador acilo en presencia de una amina y una transglutaminasa) por ingeniería genética de polipéptidos (por ejemplo, a través de eliminación, sustitución, mutación de aminoácidos o cualquier combinación de los mismos en el polipéptido), en presencia de transglutaminasa, con la condición de que el compuesto de la invención comprende un agente donador de amina (por ejemplo, una molécula pequeña que comprende o está fijada a una amina reactiva), formando por lo tanto una población estable y homogénea de un conjugado polipeptídico que contiene Fc diseñado por ingeniería genética con el agente donador de amina estando específicamente conjugado en sitio al polipéptido que contiene Fc o que contiene Fab a través de la etiqueta que contiene glutamina donadora de aceto o la glutamina endógena expuesta/accesible/reactiva. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden conjugarse como se describe en la Solicitud de Patente Internacional n.º de serie PCT/IB2011/054899, cuyos contenidos completos se incorporan en el presente documento por referencia. En determinadas realizaciones, para facilitar la conjugación del compuesto de la invención y el polipéptido que contiene Fc o que contiene Fab diseñado por ingeniería con una etiqueta que contiene glutamina donadora de acilo o una glutamina endógena hecha reactiva por diseño por ingeniería de polipéptido en presencia de transglutaminasa, Z es NR₂.

Conjugación a la región constante del dominio kappa de cadena ligera humana

En determinadas realizaciones, un compuesto de la invención puede estar covalentemente unido al lado de la cadena de K¹⁸⁸ de la región constante del dominio kappa de cadena ligera humana (CLk) (numeración de cadena de longitud completa de acuerdo con Kabat). K188 también puede denominarse CLk K80, cuando se cuenta solamente la región constante kappa humana, por ejemplo, de SEQ ID NO: 1, 2, 3 y 4).

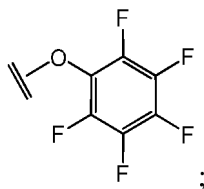
Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden conjugarse como se describe en la Solicitud de Patente de EE.UU. con Número de Serie 13/180.204 o el documento WO2012/007896 cuyos contenidos completos se incorporan en el presente documento por referencia. En determinadas realizaciones, para facilitar la conjugación a K188 CLk (CLk-K80), Z es



35

cada R⁷ se selecciona independientemente cada vez que está presente del grupo que consiste en F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃; y h es 1, 2, 3, 4 o 5.

En determinadas realizaciones, para facilitar la conjugación a K¹⁸⁸ CLk (CLk-K80), Z es



5 La presente invención proporciona además conjugados fármaco anticuerpo que comprende un anticuerpo, o porciones de unión a antígeno de los mismos, que comprenden un dominio kappa constante conjugado covalentemente a una toxina de la invención, caracterizado porque al menos una toxina de la invención se conjuga covalentemente a K80 de SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO:2, SEC ID NO: 3 o SEC ID NO: 4 (tabla 1). En algunos aspectos, el número de toxinas de la invención conjugadas covalentemente a la K80 puede ser un intervalo cuyo límite inferior se selecciona del grupo que consiste en aproximadamente 1,5, aproximadamente 1,6, aproximadamente 1,7, aproximadamente 1,8, aproximadamente 1,9 y aproximadamente 2,0 y cuyo límite superior se selecciona del grupo que consiste en aproximadamente 2,0, aproximadamente 2,1, aproximadamente 2,2, aproximadamente 2,3, aproximadamente 2,4, aproximadamente 2,5. En algunos aspectos, p es aproximadamente 2.

15 La conjugación de la toxina con el dominio ligero constante de un anticuerpo es particularmente deseable para minimizar o prevenir, cualquier interferencia con la unión de la porción Fc del anticuerpo a los receptores Fc (tales como FcγR y FcRn) o la unión del anticuerpo a su diana respectiva. A la inversa, la conjugación de la toxina respectiva a la porción Fc de un anticuerpo puede disminuir la vida media *in vivo* del anticuerpo y/o su capacidad para interactuar con el sistema inmune (función efectora). La conjugación de la toxina en la región de la cadena pesada variable (VH) o de la cadena ligera variable (VL) del anticuerpo lleva un riesgo de disminuir la unión del antígeno del anticuerpo a su cognato.

25 Adicionalmente, mientras que la conjugación a CLk-K80 es confiable y robusta, la conjugación a otras lisinas de la superficie del anticuerpo, cada una de reactividad y pI ligeramente diferentes pueden dar como resultado una muestra heterogénea de anticuerpos conjugados que pueden liberar moléculas conjugadas a tiempos inoportunos o irregulares, tales como durante la circulación y antes del transporte del Resto Efecto a la diana por el reconocimiento del anticuerpo.

30 Además, la presente invención proporciona polimorfismos conocidos de la cadena kappa V/A en la posición 45 y A/L en la posición 83 (dando los 3 polimorfismos kappa constantes humanos conocidos Km(1):V45/L83 (SEQ ID NO:2), Km (1,2): A45/L83 (SEQ ID NO:3) y Km(3) A45/V83 (SEQ ID NO:4)). La variabilidad de los restos en las posiciones 45 y 83 en SEQ ID NO:1 puede seleccionarse de tal manera que solamente proporcione uno cualquiera, dos o los tres de los polimorfismos Km(1), Km(1,2) y Km(3).

Tabla 1

SEQ ID NO	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
1	Región constante hLC GÉNERO	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDN _x LQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADY EK HK _x YACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
2	Polimorfismo Km(1) (V45/L83) de la región constante h LC	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNVLQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSST LTLSKADY EK HKLYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC

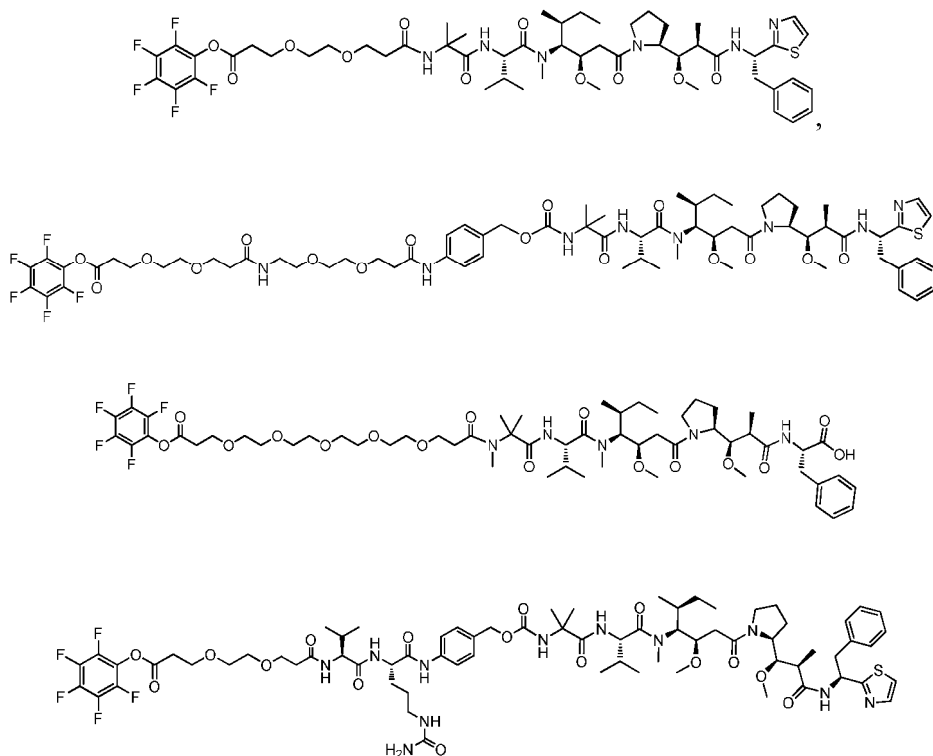
(continuación)

SEQ ID NO	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
3	Polimorfismo Km(1,2) A45/L83 de la región constante h LC	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSLST LTLSKADY EK HKLYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC
4	Polimorfismo Km(3) A45/V83 de la región constante h LC	TVAAPSVFIF PPSDEQLKSG TASVVCLLNN FYPREAKVQW KVDNALQSGN SQESVTEQDS KDSTYLSLST LTLSKADY EK HKVYACEVTH QGLSSPVTKS FNRGEC

En los que x en la posición 45 es A o V y x en la posición 83 es L o V.

5 En determinadas realizaciones, la invención proporciona una composición que comprende un compuesto de la invención conjugado covalentemente a un anticuerpo (o una porción de unión a antígeno del mismo), en el que al menos aproximadamente el 50 % o al menos aproximadamente el 60 % o al menos aproximadamente el 70 % o al menos aproximadamente el 80 % o al menos aproximadamente el 90 % del compuesto de la invención en la composición se conjuga al anticuerpo o a la porción de unión a antígeno del mismo en K¹⁸⁸ CLK.

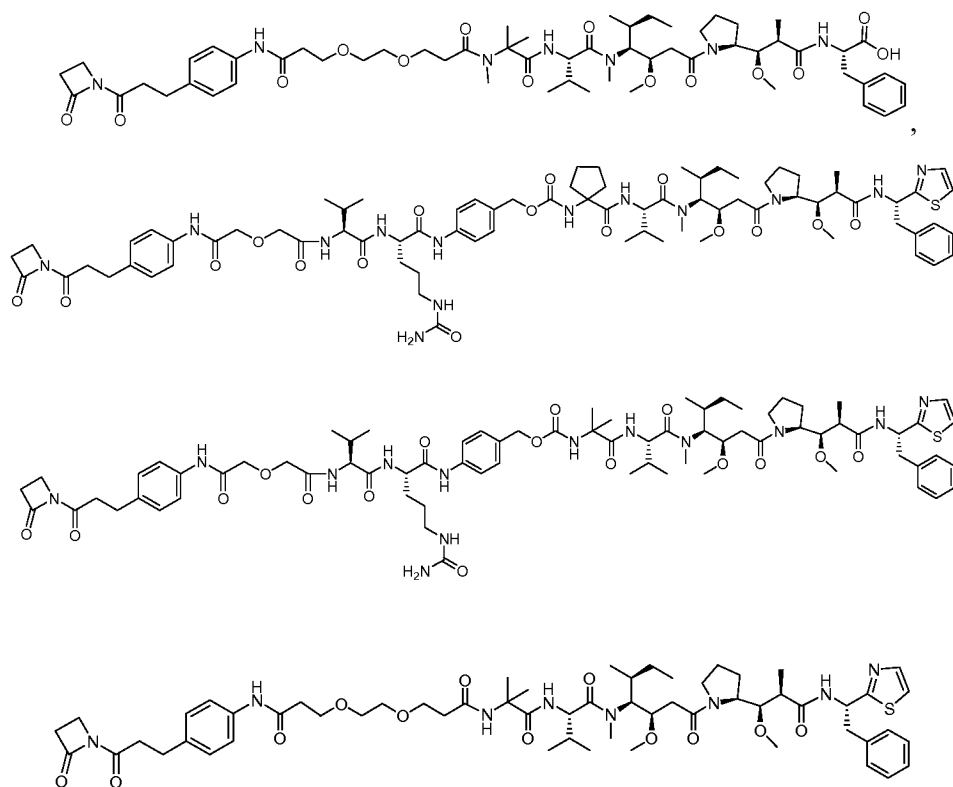
En determinadas realizaciones, los compuestos de la invención



10 y

15 pueden conjugarse al sitio de combinación de un anticuerpo catalítico, tales como anticuerpos de aldolasa o una porción de unión a antígeno de los mismos. Los anticuerpos de aldolasa contienen porciones de sitios de combinación que, cuando no tienen cargas (por ejemplo por conjugación), catalizan una reacción de adición de aldol entre un donador de cetona alifática y un aceptor de aldehído. Los contenidos de la Publicación de Solicitud de Patente de EE.UU. n.º US 2006/205670 se incorporan en el presente documento por referencia, en particular las páginas 78-118 que describen engarces y los párrafos [0153]-[0233] que describen anticuerpos, fragmentos útiles, variantes y modificaciones de los mismos, h38C2, sitios de combinación y regiones determinantes de complementariedad (CDR) y tecnología de anticuerpos relacionados (Tabla 2 y los compuestos ejemplares a

20 continuación):



y

5

La expresión "sitio de combinación" incluye las CDR y los restos marco adyacentes que están implicados en la unión a antígeno.

Tabla 2

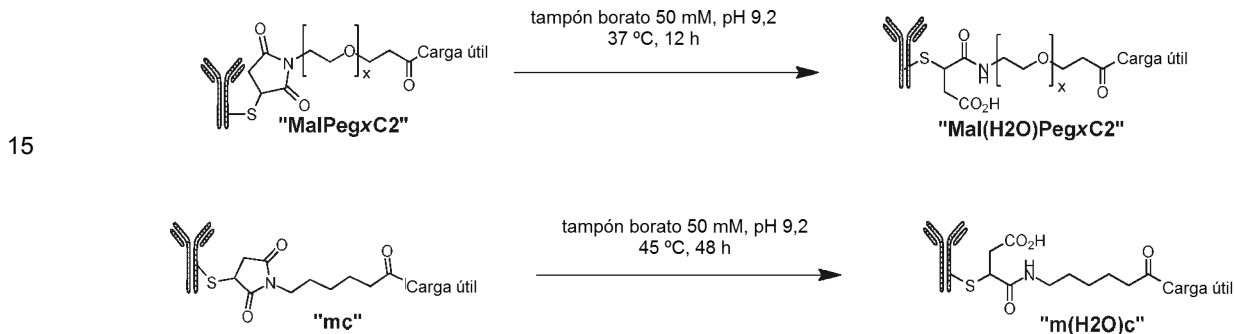
SEQ ID NO	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
5	<u>h38C2 VL</u>	ELQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSLL HTYGSPLYLNW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPSRFRSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAV YFCSQGTHLP YTFGGGTKVE IK
6	<u>h38C2 VH</u>	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NYWMSWVRQS PEKGLEWVSE IRLRSDNYAT HYAESVKGRF TISRDNKNT LYLQMNSLRA EDTGIYYCKT YFYFSYWGQ GTLTVVSS
7	<u>h38C2 LC</u>	ELQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSLL HTYGSPLYLNW YLQKPGQSPK LLIYKVSNRF SGVPSRFRSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAV YFCSQGTHLP YTFGGGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

(continuación)

SEQ ID NO	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
8	<u>h38C2 HC</u>	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS
		NYWMSWVRQS PEKGLEWVSE IRLRSDNYAT
		HYAESVKGRF TISRDNKNT LYLQMNSLRA
		EDTGIYYCKT YFYSFYWGQ GTLVTVSSAS
		TKGPSVFPLA PSSKSTSGGT AALGCLVKDY
		FPEPVTVSWN SGALTSKVHT FPAVLQSSGL
		YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT
		KVDKRVEPKS CDKTHTCPPC PAPELLGGPS
		VFLFPPKPKD TLMISRTPEV TCVVVDVSH
		DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST
		YRVVSVLTVL HQDWLNGKEY KCKVSNKALP
		APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT
		KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN
		NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK LTVDKSRWQQ
		GNVFSCSVMH EALHNHYTOK SLSLSPGK

Conjugación con engarces que comprenden succinimidas, incluyendo versiones de anillo abierto

5 En determinadas realizaciones, la presente invención incluye un compuesto de la invención conjugado mediante un
 10 engarce basado en succinimida o un engarce basado en succinimida de anillo abierto. La estabilidad del engarce de
 succinimida-cisteína se ha vuelto un área de interés creciente. Las succinimidas pueden transferirse tanto *in vitro*
 como *in vivo* a nucleófilos de tiol exógenos, presumiblemente a través de una reacción de retro-Michael, dando como
 resultado una maleimida que posteriormente se une mediante un tiol. Se cree que la hidrólisis del anillo da como
 resultado una especie que es resistente a reacción de retro-Michael. Esto hace que el conjugado resultante sea más
 estable y potencialmente más eficaz. Las condiciones pueden ser optimizadas para abrir a la fuerza el anillo
 succinimida en el conjugado. Las condiciones básicas resultaron en una sencilla hidrólisis del anillo. Por ejemplo, los
 engarces que contienen una cadena de polietilenglicol (PEG) pueden hidrolizarse a pH 9,2 a 37 °C en
 aproximadamente 12h, y los engarces que contienen una cadena de alquilo, tal como "mc" pueden requerir una
 temperatura más alta y un tiempo de reacción más largo para llevar a finalización la apertura de anillo.



Ejemplo de hidrólisis forzada de conjugados basados en maleimida

Para asegurar la estabilidad de estos conjugados y priorizar las muestras para evaluación *in vivo*, se desarrolló un
 ensayo que implica el tratamiento de los conjugados unidos a maleimida con exceso de glutatona acuosa (GSH) o
 plasma. Se analizaron alícuotas de la mezcla de reacción en diversos momentos de tiempo para determinar la carga
 del conjugado, usando la metodología descrita anteriormente. Los resultados (**Tabla 24**) indican que el engarce de
 fármaco-anticuerpo se escinde lentamente de una manera dependiente de GSH. Como era de esperar, la tasa de

escisión depende en gran medida de la hidrólisis del anillo succinimida. De forma importante, estos resultados parecen traducirse en una exposición a PK mejorada, según se midió por un aumento en el área bajo la curva (ABC) del conjugado y por un aumento en la tasa de exposición a conjugado/Ab.

Procedimiento para evaluar la estabilidad de ADC

- 5 La muestra de ADC (30 µg) en PBS se mezcla con una solución de glutatona (GSH) para producir una concentración final de GSH de 0,5 mM y una concentración de proteína de 3 mg/ml. Una mezcla de control (sin GSH) se preparó del mismo modo a partir de 30 µg de ADC diluido a 3 mg/ml en PBS. La muestra de ADC tratada con GSH y la muestra de ADC de control se incubaron a 37 °C y se tomaron muestras a los 0, 3 y 6 días. Se redujeron alícuotas con exceso de TCEP, se acidificaron añadiendo una solución al 0,1 % de ácido fórmico con acetronitrilo al 10 % y se analizó su carga por CL/EM como se describe a continuación.

- 10 Análisis de muestra: El análisis se realizó usando una HPLC capilar Agilent 1100 acoplada con un espectrómetro de masas Xevo G2 Q-TOF de Waters. Los analitos se cargaron en una columna Poroshell 300SB C8 de Zorbax (0,5 mm x 75 mm, mantenida a 80 °C) con ácido fórmico al 0,1 % y se eluyeron usando un gradiente de 20-40 % de tampón B (acetronitrilo al 80 %, 1-propanol al 18 %, agua al 2 % con ácido fórmico al 0,1 %) a un caudal de 20 µl/min durante 5,5 minutos. La detección de espectrometría de masas se realizó en modo de sensibilidad positivo con una tensión capital ajustada a 3,3 kV. El análisis de datos se realizó con la función MaxEnt 1 en MassLynx y las intensidades se usaron para el cálculo de carga basado en la fórmula descrita anteriormente.

Composiciones y procedimientos de administración

- 20 En otras realizaciones, otro aspecto de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que incluyen una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo y un transportador o vehículo farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, las composiciones son adecuadas para la administración veterinaria o humana.

- 25 Las presentes composiciones farmacéuticas pueden estar en cualquier forma que permita que la composición se administre a un paciente. Por ejemplo, la composición puede estar en forma de un sólido o un líquido. Las vías típicas de administración incluyen, sin limitación, parenteral, ocular e intra-tumoral. La administración parenteral incluye inyecciones subcutáneas, inyección intravenosa, intramuscular o intraesternal o técnicas de infusión. En un aspecto, las composiciones se administran parenteralmente. En una realización específica, las composiciones se administran intravenosamente.

- 30 Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de tal manera que permitan que un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo estén biodisponibles tras la administración de la composición a un paciente. Las composiciones pueden tomar la forma de una o más unidades de dosificación, donde por ejemplo, un comprimido puede ser una unidad de dosificación unitaria y un envase de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo en forma líquida puede mantener una pluralidad de unidades de dosificación.

- 35 Los materiales usados en la preparación de las composiciones farmacéuticas pueden ser no tóxicos en las composiciones usadas. Será evidente para aquellos expertos ordinarios en la materia que la dosificación óptima del principio o principios activos en la composición farmacéutica dependerá de una diversidad de factores. Los factores relevantes incluyen, sin limitación, el tipo de animal (por ejemplo, ser humano), la forma particular de un compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo, la manera de la administración y la composición empleada.

- 40 El transportador o vehículo farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o particulados, de tal manera que las composiciones están, por ejemplo, en forma de comprimido o en polvo. El vehículo o vehículos pueden ser líquidos. Además, el vehículo o vehículos pueden ser particulados.

- 45 La composición puede estar en forma de un sólido o un líquido, por ejemplo, una solución, emulsión o suspensión. En una composición para la administración por inyección, también pueden incluirse uno o más de un tensioactivo, un conservante, un agente humectante, un agente dispersante, un agente de suspensión, un tampón, un estabilizante y un agente isotónico.

- 50 Las composiciones líquidas, ya sean soluciones, suspensiones o formas similares distintas, también pueden incluir uno o más de los siguientes: diluyentes estériles tales como agua para inyección, solución salina, preferentemente solución salina fisiológica, solución de Ringer, cloruro sódico isotónico, aceites fijados tales como mono o diglicéridos sintéticos que pueden servir como medio disolvente o de suspensión, polietilenglicoles, glicerina, ciclodextrina, propilenglicol u otros disolventes; agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico; agentes quelantes tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones tales como acetatos, citratos, fosfatos o aminoácidos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro sódico o dextrosa. Una composición parenteral se puede encerrar en ampollas, una jeringa desechable o un vial de dosis múltiples hecho de vidrio, plástico u otro material. La solución salina fisiológica es un adyuvante ejemplar. Una composición inyectable es preferentemente estéril.

La cantidad de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo que es eficaz en el tratamiento de un trastorno o afección particular dependerá de la naturaleza del trastorno o afección y puede determinarse por técnicas clínicas convencionales. Además, los ensayos in vitro o in vivo pueden emplearse opcionalmente para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. La dosis precisa a emplearse en las composiciones dependerá también de la vía de administración y la gravedad de la enfermedad o trastorno y debe decidirse de acuerdo con el juicio del médico y las circunstancias de cada paciente.

Las composiciones comprenden una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo de tal manera que se obtendrá una dosificación adecuada. Típicamente, esta cantidad es al menos aproximadamente un 0,01 % de una composición de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo en peso de la composición. En una realización ejemplar, las composiciones farmacéuticas se preparan de tal manera que una unidad de dosificación parenteral contenga de aproximadamente el 0,01 % a aproximadamente el 2 % en peso de la cantidad de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo.

Para la administración intravenosa, la composición puede comprender de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo por kg del peso corporal del paciente. En un aspecto, la composición puede incluir de aproximadamente 1 a aproximadamente 100 mg de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo por kg del peso corporal del paciente. En otro aspecto, la cantidad administrada estará en el intervalo de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo.

Generalmente, la dosificación de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo administrada a un paciente es típicamente aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 20 mg/kg del peso corporal del paciente. En un aspecto, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,01 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del paciente. En otro aspecto, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal del paciente. En otro aspecto más, la dosificación administrada a un paciente está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 5 mg/kg del peso corporal del paciente. En otro aspecto más la dosificación administrada está entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 3 mg/kg del peso corporal del paciente. En otro aspecto más, la dosificación administrada está entre aproximadamente 1 mg/kg y aproximadamente 3 mg/kg del peso corporal del paciente.

Un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo pueden administrarse por cualquier vía conveniente, por ejemplo por infusión o inyección de bolo. La administración puede ser sistémica o local. Se conocen diversos sistemas de administración, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc. y pueden usarse para administrar un compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo. En determinadas realizaciones, se administra más de un compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo a un paciente.

En realizaciones específicas, puede ser deseable administrar uno o más compuestos de la invención y/o conjugados fármaco anticuerpo de los mismos localmente al área en necesidad de tratamiento. Esto se puede lograr, por ejemplo y no a modo de limitación, por infusión local durante la cirugía; aplicación tópica, por ejemplo, junto con un apósito para heridas después de la cirugía; por inyección; por medio de un catéter; o por medio de un implante, siendo el implante de un material poroso, no poroso o gelatinoso, incluyendo membranas, tales como membranas silásticas o fibras. En una realización, la administración puede ser por inyección directa en el sitio (o el primer sitio) de un cáncer, un tumor o un tejido neoplásico o pre-neoplásico. En otra realización, la administración puede ser por inyección directa en el sitio (o el primer sitio) de una manifestación de una enfermedad autoinmune.

En otra realización más, el compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo pueden administrarse en un sistema de liberación controlada, tal como pero no limitado a, pueden usarse una bomba o diversos materiales poliméricos. En otra realización más, puede colocarse un sistema de liberación controlada en la proximidad de la diana del compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo, por ejemplo, el hígado, requiriendo de esta manera solamente una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, en *Medical Applications of Controlled Release*, citada anteriormente, vol. 2, págs. 115-138 (1984)). Pueden usarse otros sistemas de liberación controlada analizados anteriormente en la revisión de Langer (*Science* 249:1527-1533 (1990)).

El término "vehículo" se refiere a un diluyente, un adyuvante o un excipiente, con el que se administra un compuesto o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos, tales como agua y aceites, incluyendo aquellos cuyo origen es petróleo, animal, vegetal o sintético. Los vehículos pueden ser solución salina y similares. Además, pueden usarse agentes auxiliares, estabilizantes y otros. En una realización, cuando se administran a un paciente, el compuesto o el conjugado y los vehículos farmacéuticamente aceptables son estériles. El agua es un vehículo ejemplar cuando el compuesto o el conjugado se administran por vía intravenosa. También pueden emplearse soluciones salinas y soluciones acuosas de dextrosa y glicerol como vehículos líquidos, particularmente para soluciones inyectables. Las presentes composiciones, si se desea, también puede contener cantidades menores de agentes humectantes o emulsionantes, o agentes tamponantes del pH.

Las presentes composiciones pueden tomar la forma de soluciones, gránulos, polvos, formulaciones de liberación sostenida o cualquier otra forma adecuada para su uso. Otros ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E. W. Martin.

5 En una realización, el compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo se formulan de acuerdo con los procedimientos rutinarios como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa para animales, particularmente seres humanos. Típicamente, los transportadores o vehículos para la administración intravenosa son soluciones tampón acuosas isotónicas estériles. En caso necesario, las composiciones pueden incluir también un agente solubilizante. Las composiciones para la administración intravenosa pueden comprender opcionalmente un anestésico local tal como lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de la inyección. Generalmente, los ingredientes se suministran bien separadamente o bien mezclados juntos en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o un concentrado libre de agua en un recipiente herméticamente sellado tal como una ampolla o un saquito que indica la cantidad de principio activo. Cuando un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo ha de administrarse por infusión, puede dispensarse, por ejemplo, con una botella de infusión que contiene agua de grado farmacéutico estéril o solución salina. Cuando el compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo ha de administrarse por inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina de tal manera que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

La composición puede incluir diversos materiales que modifican la forma física de una unidad de dosificación sólida o líquida. Por ejemplo, la composición puede incluir materiales que forman una capa de revestimiento alrededor de los principios activos. Los materiales que forman la capa de revestimiento son típicamente inertes y pueden seleccionarse de, por ejemplo, azúcar, goma laca y otros agentes de revestimiento entérico. Como alternativa, los principios activos pueden encerrarse en una cápsula de gelatina.

Ya sea en forma sólida o líquida, las presentes composiciones pueden incluir un agente farmacológico usado en el tratamiento del cáncer.

25 **Usos terapéuticos de compuestos y conjugados fármaco anticuerpo de los mismos**

Otro aspecto de la invención se refiere a los compuestos de la invención y los conjugados fármaco anticuerpo de los mismos para tratar cáncer.

Los compuestos de la invención y/o los conjugados fármaco anticuerpo de los mismos son útiles para inhibir la multiplicación de una célula tumoral o una célula cancerosa, provocando la apoptosis en un tumor o una célula cancerosa, o para tratar cáncer en un paciente. Los compuestos de la invención y/o los conjugados fármaco anticuerpo de los mismos pueden usarse en consecuencia en una diversidad de ajustes para el tratamiento de cánceres animales. Dichos conjugados pueden usarse para transportar un compuesto de la invención a una célula tumoral o una célula cancerosa. Sin quedar ligado a teoría alguna, en una realización, el anticuerpo del conjugado se une a o se asocia al antígeno asociado a célula cancerosa o a célula tumoral y el conjugado puede captarse (internalizarse) dentro de una célula tumoral o una célula cancerosa a través de endocitosis mediada por receptor u otro mecanismo de internalización. El antígeno puede fijarse a una célula tumoral o una célula cancerosa o puede ser una proteína de la matriz extracelular asociada a la célula tumoral o a la célula cancerosa. En determinadas realizaciones, una vez dentro de la célula, una o más secuencias peptídicas específicas se escinden enzimática o hidrolíticamente por una o más proteasas asociadas a la célula tumoral o a la célula cancerosa, dando como resultado la liberación de un compuesto de la invención a partir del conjugado. El compuesto liberado de la invención es entonces libre para migrar dentro de la célula e inducir actividades citotóxicas o citostáticas. El conjugado también puede escindirse por una proteasa intracelular para liberar un compuesto de la invención. En una realización alternativa, el compuesto de la invención se escinde desde el conjugado fuera de la célula tumoral o la célula cancerosa y el compuesto de la invención posteriormente penetra en la célula.

45 En determinadas realizaciones, los conjugados proporcionan marcaje como diana del fármaco de conjugación específica de tumor o de cáncer, reduciendo de esta manera la toxicidad general de los compuestos de la invención.

En otra realización, la unidad de anticuerpo se une a la célula tumoral o la célula cancerosa.

En otra realización, la unidad de anticuerpo se une a un antígeno de célula tumoral o de célula cancerosa que está en la superficie de la célula tumoral o la célula cancerosa.

50 En otra realización, la unidad del anticuerpo se une a un antígeno de célula tumoral o de célula cancerosa que es una proteína de la matriz extracelular asociada a la célula tumoral o a la célula cancerosa.

La especificidad de la unidad de anticuerpo para una célula tumoral o una célula cancerosa particulares puede ser importante para determinar aquellos tumores o cánceres que se tratan más eficazmente.

55 Los tipos particulares de cánceres que pueden tratarse con un compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo, incluyen pero no se limitan a, carcinomas de la vejiga, de mama, de cuello de útero, de colon, de endometrio, de riñón, de pulmón, de esófago, de ovario, de próstata, de páncreas, de piel, de estómago y de

testículos; y cánceres nacidos en la sangre incluyendo pero no limitados a leucemias y linfomas.

Terapia multimodal para el cáncer. Los cánceres, incluyendo, pero no limitados a, un tumor, una metástasis u otra enfermedad o trastorno caracterizados por el crecimiento celular incontrolado, pueden tratarse o inhibirse mediante la administración de un compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo.

- 5 En otras realizaciones, se proporcionan procedimientos para tratar cáncer, incluyendo administrar a un paciente en necesidad de la misma una cantidad eficaz de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo y un agente quimioterapéutico. En una realización el agente quimioterapéutico es aquel con el que el tratamiento del cáncer no se ha encontrado ser refractario. En otra realización, el agente quimioterapéutico es aquel con el que se ha descubierto que el tratamiento del cáncer es refractario. Un compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo pueden administrarse a un paciente que se ha sometido además a cirugía como tratamiento para el cáncer.

- 10 En algunas realizaciones, el paciente también recibe un tratamiento adicional, tal como terapia de radiación. En una realización específica, el compuesto de la invención y/o el conjugado fármaco anticuerpo del mismo se administra concurrentemente con el agente quimioterapéutico o con terapia de radiación. En otra realización específica, el agente quimioterapéutico o la terapia de radiación se administra antes de o posteriormente a la administración de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo.

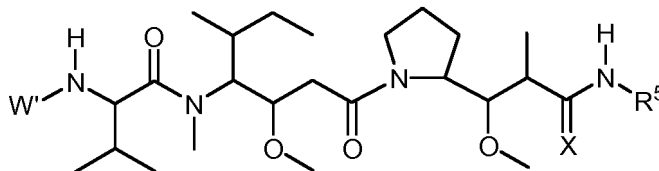
Un agente quimioterapéutico puede administrarse durante una serie de sesiones. Puede administrarse uno cualquiera o una combinación de los agentes quimioterapéuticos, tales como un patrón de agente o agentes quimioterapéuticos para el cuidado.

- 20 Además, se proporcionan procedimientos de tratamiento de cáncer con un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo como una alternativa a la quimioterapia o la terapia de radiación donde la quimioterapia o la terapia de radiación ha demostrado o puede demostrar ser demasiado tóxica, por ejemplo, resulta en efectos secundarios inaceptables o que no son llevables, para el sujeto a tratar. El paciente a tratar puede, opcionalmente, tratarse con otro tratamiento para el cáncer tal como cirugía, terapia de radiación o quimioterapia, dependiendo de qué tratamiento se encuentra ser aceptable o llevable.

- 25 Los compuestos de la invención y/o los conjugados fármaco anticuerpo de los mismos pueden usarse también de una manera in vitro o ex vivo, tal como para el tratamiento de ciertos cánceres, incluyendo, pero no limitado a leucemias y linfomas, implicando dicho tratamiento trasplantes de células madre autólogas. Esto puede implicar un procedimiento multi-etapa en el que las células madre hematopoyéticas autólogas del animal se cosechan y se purgan de todas las células cancerosas, después la población celular de la médula ósea que queda en el animal se erradica a través de la administración de una alta dosis de un compuesto de la invención y/o un conjugado fármaco anticuerpo del mismo con o sin terapia de radiación de dosis alta acompañante y el injerto de células madre se infunde de nuevo al animal. Después se proporciona cuidado de soporte mientras que la función de la médula ósea se restaura y el paciente se recupera.

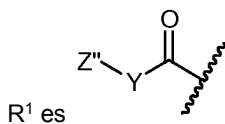
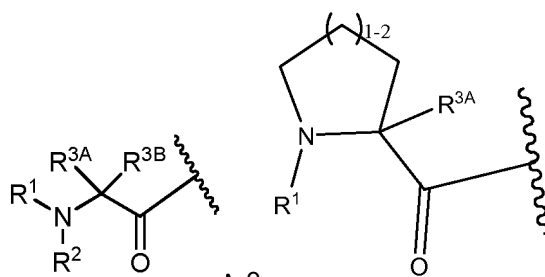
35 **Especies liberadas**

Las realizaciones adicionales de la invención incluyen la especie química liberada, dentro de o en la vecindad de la célula cancerosa o la célula tumoral por la que se cree que se escindirán enzimática y/o hidrolíticamente por una o más proteasas asociadas a células cancerosas o células tumorales. Dichos compuestos incluyen las especies descritas en el presente documento y también incluyen compuestos tales como aquellos descritos en la estructura:



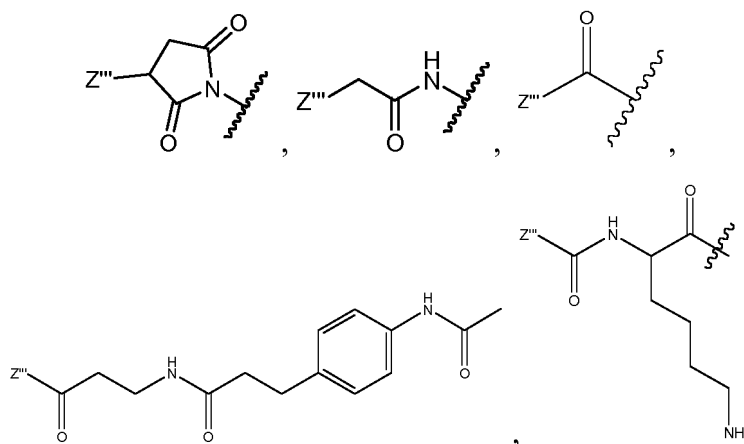
- 40 **IV**
o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que está presente,

W es



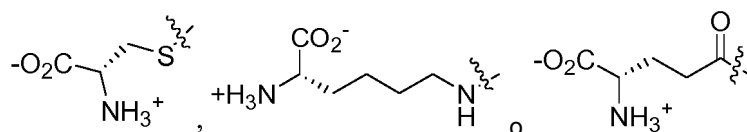
5 Y es alquileno C₂-C₂₀ o heteroalquileno C₂-C₂₀; carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquilen C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquilen C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquilen C₁-C₁₀-;

Z'' es



o -NHZ''';

10 Z''' es



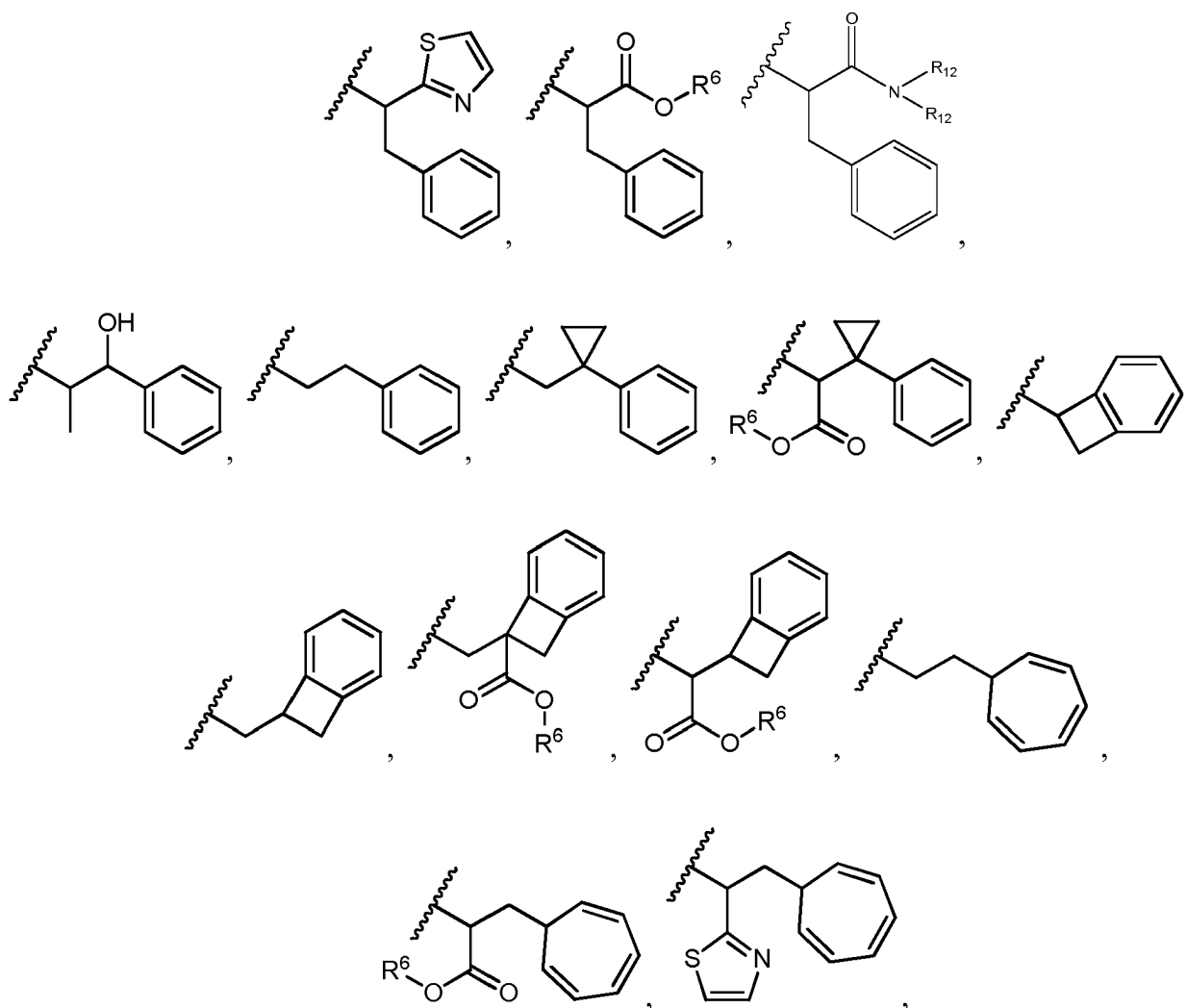
G es halógeno, -OH, -SH o -S-alquilo C₁-C₆;

R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

R^{3A} y R^{3B} se definen como cualquiera de los siguientes:

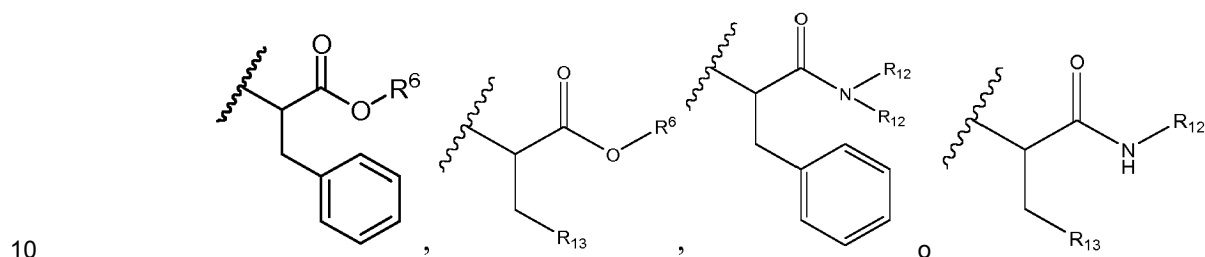
15 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o

(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son alquileno C₂-C₈, dicho alquileno C₂-C₈ cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o heteroalquileno C₁-C₈, dicho heteroalquileno C₁-C₈, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado; R⁵ es



5 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR' -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

o R⁵ es



10 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH,

15 halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;

R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;

R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y

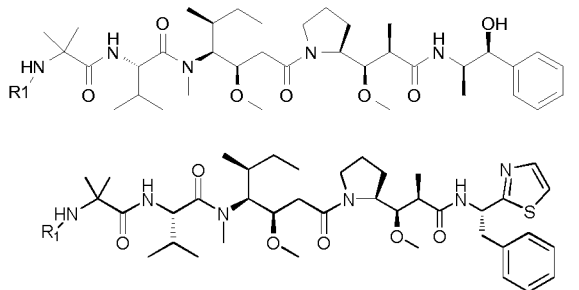
5 R⁷ se selecciona independientemente cada vez que aparece entre el grupo que consiste en F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;

R¹⁰ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₁₀, -carbociclo C₃-C₈, arilo, -heteroalquilo C₁-C₁₀, -heterociclo C₃-C₈, -alquilen C₁-C₁₀-arilo, -arileno-alquilo C₁-C₁₀, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈), -(carbociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈) y -(heterociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, en los que el arilo en los R₁₀ que comprenden arilo está opcionalmente sustituido con [R₇]_h;

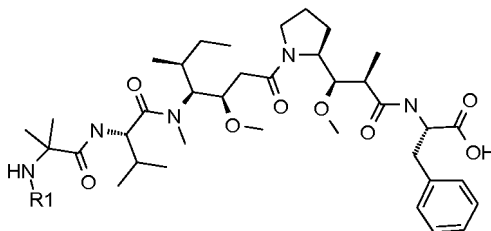
10 h es 1, 2, 3, 4 o 5; y

X es O.

Son de interés particular compuestos de fórmula IV que tienen las estructuras:



15 y



La invención se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos, que no están destinados a limitar al ámbito de la invención.

Ejemplos

20 Los experimentos se llevaron a cabo de forma general en una atmósfera inerte (nitrógeno o argón), especialmente en los casos en los que se emplearon reactivos o intermedios sensibles al oxígeno o a la humedad. Generalmente se usaron disolventes y reactivos comerciales sin purificación adicional, que incluyen disolventes anhidros donde sea apropiado (generalmente productos Sure-Seal™ de la Aldrich Chemical Company, Milwaukee, Wisconsin). De forma

25 biológicos. Los datos de espectrometría de masas se indican tanto para la cromatografía líquida-espectrometría de masas (CLEM), la ionización química a presión atmosférica (APCI) o el instrumento de cromatografía de gases-espectrometría de masas (CGEM). Los desplazamientos químicos en los datos de resonancia magnética nuclear (RMN) se expresan en partes por millón (ppm, δ) referidos a los picos residuales de los disolventes deuterados utilizados.

30 Para las síntesis que hagan referencia a los procedimientos de otros Ejemplos o Procedimientos, el protocolo de reacción (duración de la reacción y la temperatura) puede variar. En general, las reacciones fueron seguidas por cromatografía en capa fina (TLC) o espectrometría de masas, y se sometieron a tratamiento cuando fue adecuado. Las purificaciones pueden variar entre experimentos: por lo general, los disolventes y las proporciones de disolventes usadas para los eluyentes/gradientes se seleccionaron para proporcionar R_fS o tiempos de retención

35 adecuados.

Se realizaron rotaciones ópticas en un polarímetro 343 de Perkin-Elmer (Número de serie 9506).

Se realizaron HRMS en un Agilent 6220 TOF CL/EM.

Los nombres de compuestos se generaron con software de ACD Labs.

Condiciones de HPLC y CL-EM usadas para análisis

- 5 *Protocolo A:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B al 5 % durante 1,5 minutos, 5 % a 100 % de B durante 8,5 minutos, después B al 100 % durante 1 minuto; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.
- 10 *Protocolo B:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B al 50 % durante 1,5 minutos, 50 % a 100 % de B durante 6,5 minutos, después B al 100 % durante 3 minutos; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.
- 15 *Protocolo C:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,02 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,02 % en metanol (v/v); Gradiente: B del 50 % al 100 % durante 10 minutos; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1100 HPLC.
- 20 *Protocolo D:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,02 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,02 % en metanol (v/v); Gradiente: B del 5 % al 100 % durante 8 minutos; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1100 HPLC.
- 25 *Protocolo E:* Columna: Phenomenex Lux Amylose-2, 250 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil A: heptano; Fase móvil B: etanol (desnaturalizado); Gradiente: B del 5 % al 100 % durante 10 minutos; Caudal: 1,5 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-1500 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1100 LCMS.
- 30 *Protocolo F:* Columna: Waters Acquity UPLC BEH, C18, 2,1 x 50 mm, 1,7 µm; Fase móvil A: : ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 5 % de B durante 0,1 minutos, 5 % a 95 % de B durante 0,7 minutos, 95 % de B durante 0,1 minutos; Caudal: 1,25 ml/minuto. Temperatura: 60 °C; Detección: 200-450 nm; intercalo de EM (+) 100-1200 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Waters Acquity.
- 35 *Protocolo G:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,02 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,02 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 0 % al 100 % durante 8,5 minutos; Caudal: 1,5 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 210 nm; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1100 HPLC.
- 40 *Protocolo H:* Columna: Phenomenex Gemini-NX, C18, 4,6 x 50 mm, 3 µm, 110 Å; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 0 % a 100 % de B durante 4,10 minutos, lineal después 100 % de B durante 0,4 minutos; Caudal: 1,5 ml/minuto. Temperatura: 60 °C; Detección: DAD 200-450 nm; intercalo de EM (+) 100-2000 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Agilent.
- 45 *Protocolo I:* Columna: Atlantis T3, 75 x 3,0 mm, 3 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,05 % en agua (v/v); Fase móvil B: acetonitrilo; Gradiente: B del 5 % al 95 % durante 5,75 minutos; Caudal: 1,2 ml/minuto. Temperatura: 45 °C; Detección: DAD 215 nm, 230 nm, 254 nm; intervalo de EM (+): 150-1200 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Agilent 1100 LCMS.
- 50 *Protocolo J:* Columna: Phenomenex Luna Fenil-Hexilo, 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B al 5 % durante 1,5 minutos, 5 % a 100 % de B durante 8,5 minutos, después 100 % de B durante 1 minuto; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.
- 55 *Protocolo K:* Columna: Symmetry-C18, 50 x 2,1 mm, 3,5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en metanol (v/v); Gradiente: B del 10 % al 90 % durante 6,5 minutos; Caudal: 0,7 ml/minuto. Temperatura: temperatura ambiente; Detección: DAD 215 nm; intercalo de EM (+) 100-1500 daltons; Volumen de inyección: 3 µl; Instrumento: Waters 996 PDA.
- Protocolo L:* Columna: XBridge C-18, 150 x 4,6 mm, 3,5 µm; Fase móvil A: solución acuosa 5 mM de acetato amónico; Fase móvil B: acetonitrilo; Gradiente: 10 % de B durante 3 minutos después de 10 % a 80 % de B durante 14 minutos; Caudal: 0,7 ml/minuto. Temperatura: temperatura ambiente; Detección: DAD 215 nm; intercalo de EM (+) 100-1500 daltons; Volumen de inyección: 3 µl; Instrumento: Waters 996 PDA.

ES 2 657 014 T3

- 5 *Protocolo M:* Columna: Phenomenex Luna, 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en metanol (v/v); Gradiente: B al 50 % durante 1,5 minutos, 50 % a 80 % de B durante 8,5 minutos, después B al 80 % durante 10 minutos; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: 45 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 90-2000 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.
- 10 *Protocolo N:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,02 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,02 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 0 % al 100 % durante 23,5 minutos; Caudal: 1,5 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 210 nm; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1100 HPLC
- 15 *Protocolo O:* Columna: Columna: Agilent Poroshell 300SB-C8, 75 x 2,1 mm, 2,6 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: de 20 % de B a 45 % de B durante 4 minutos; Caudal: 1,0 ml/minuto. Temperatura: 60 °C; Detección: 220 nm; intervalo de EM (+) 400-2000 Da; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1100 LC, Waters Micromass ZQ MS. La desconvolución se realizó usando MaxEnt1.
- 20 *Protocolo P:* Columna: Columna: TSK-gel G3000SWxl, 300 x 7,8 mm, 10 µm; Fase móvil: Solución salina tamponada con fosfato (PBS, IX), pH 7,4 con acetonitrilo al 2 %; Isocrático; Caudal: 1 ml/minuto. Temperatura: temperatura ambiente; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Agilent 1100 HPLC.
- 25 *Protocolo Q:* Columna: Waters Acquity UPLC HSS T3, C18, 2,1 x 50 mm, 1,7 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 5 % de B durante 0,1 minutos, 5 % a 95 % de B durante 2,5 minutos, 95 % de B durante 0,35 minutos; Caudal: 1,25 ml/minuto. Temperatura: 60 °C; Detección: 200-450 nm; intercalo de EM (+) 100-2000 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Waters Acquity.
- 30 *Protocolo Q1:* Columna: Waters Acquity UPLC HSS T3, C18, 2,1 x 50 mm, 1,7 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 5 % de B durante 0,1 minutos, 5 % a 95 % de B durante 1,5 minutos, 95 % de B durante 0,35 minutos; Caudal: 1,25 ml/minuto. Temperatura: 60 °C; Detección: 200-450 nm; intercalo de EM (+) 100-2000 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Waters Acquity.
- 35 *Protocolo Q2:* Columna: Xtime C18, 2,1 x 30 mm, 3 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 10 % a 80 % de B durante 0,9 minutos, 80 % de B durante 0,6 minutos; 100 % de B durante 0,5 minutos; Caudal: 1,2 ml/minuto. Detección: DAD 220 nM; Temperatura: 25 °C; Volumen de inyección: 1 µl; Instrumento: Agilent.
- 40 *Protocolo Q3:* Columna: Xtime C18, 2,1 x 30 mm, 3 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente de 0 % a 60 % de B durante 0,9 minutos, 60 % de B durante 0,6 minutos; 100 % de B durante 0,5 minutos; Caudal: 1,2 ml/minuto. Detección: DAD 220 nM; Temperatura: 25 °C; Volumen de inyección: 1 µl; Instrumento: Agilent.
- 45 *Protocolo R:* Columna: Phenomenex Luna, 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en metanol (v/v); Gradiente: B al 5 % durante 1,5 minutos, 5 % a 100 % de B durante 8,5 minutos, después 100 % de B durante 1 minuto; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: 45 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: 305 RP Agilent 1200 LCMS.
- 50 *Protocolo S:* Columna: Phenomenex Luna, 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B al 5 % durante 1,5 minutos, 5 % a 95 % de B durante 8,5 minutos, después 100 % de B durante 1 minuto; Caudal: 1,0 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 210 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: 305 RP Agilent 1100 HPLC.
- 55 *Protocolo T:* Columna: Atlantis dC18, 50 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,05 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,05 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 5 % al 95 % durante 4,0 minutos; después parada a 95 % de B durante 1 minuto; Caudal: 2 ml/minuto. Temperatura: temperatura ambiente; Detección: DAD 215 nm; intervalo de EM (+) 160 -1000 daltons; Volumen de inyección: 3 µl; Instrumento: Waters 996 PDA.
- Protocolo U:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 3,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B al 5 % durante 1,5 minutos, 5 % a 100 % de B durante 8,5 minutos, después B al 100 % durante 1 minuto; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: 45 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 10 µl; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.

Protocolo V: Columna: HPLC-V Ultimate XB-C18, 50 x 3,0 mm, 3 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,225 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,225 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 30 % al 90 % durante 6 minutos; Caudal: 1,2 ml/minuto. Temperatura: 40 °C; Detección: DAD 220 nm; Volumen de inyección: 1 µl; Instrumento: SHIMADZU.

- 5 *Protocolo W:* Columna: HPLC-V Ultimate XB-C18, 50 x 3,0 mm, 3 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 10 % al 80 % durante 6 minutos; Caudal: 1,2 ml/minuto. Temperatura: 40 °C; Detección: DAD 220 nm; Volumen de inyección: 3 µl; Instrumento: SHIMADZU.

- 10 *Protocolo X:* Columna: YMC-pack ODS-A, 150 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 10 % al 80 % durante 6 minutos; Caudal: 1,2 ml/minuto. Detección: DAD 220 nm. Temperatura: 40 °C; Volumen de inyección: 3 µl; Instrumento: SHIMADZU.

- 15 *Protocolo Y:* Columna: YMC-pack ODS-A, 150 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 0 % a 95 % de B durante 10 minutos, después 95 % de B durante 5 minutos; Caudal: 1,5 ml/minuto; Detección: DAD 220 nm; Instrumento: Agilent 1100.

- 20 *Protocolo Z:* Columna: Xtimate C18, 2,1 x 30 µm, 3 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 0 % al 60 % durante 2 minutos; Caudal: 1,2 ml/min. Temperatura: 50 °C; Detección: 220 nm, intervalo de EM (+) 100 -1000 daltons; Volumen de inyección: 1 µl; Instrumento: SHIMADZU.

Protocolo AB: Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 2,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 5 % a 100 % de B durante 10 minutos, después B al 100 % durante 2 minutos; Caudal: 0,5 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 210 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Agilent 1100 LCMS.

- 25 *Protocolo BB:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 2,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B al 5 % durante 2,0 minutos, de 5 % a 100 % de B durante 12 minutos y 100 % de B durante 2 minutos, después de 100 % a 5 % de B durante 1,5 min; Caudal: 0,75 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Agilent.

- 30 *Protocolo CB:* Columna: Waters XBridge C18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Fase móvil A: hidróxido de amonio al 0,03 % en agua (v/v); Fase móvil B: hidróxido de amonio al 0,03 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: 5 % a 95 % de B durante 4,0 minutos, después B al 95 % durante 1 minuto; Caudal: 2 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm, intercalo de EM (+) 160-1000 daltons; Volumen de inyección: 4 µl; Instrumento: Waters ZQ/Alliance 2795 HPLC.

- 35 *Protocolo DB:* Columna: Waters Atlantis dC18, 4,6 x 50 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,05 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,05 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: de 5,0 % a 95 % de B durante 4,0 minutos, después 95 % de B durante 1 minuto. Caudal: 2 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm, intercalo de EM (+) 160-1000 daltons; Volumen de inyección: 4 µl; Instrumento: Waters ZQ/Alliance 2795 HPLC.

- 40 *Protocolo EB:* Columna: XBridge RP18, 2,1 x 50 mm, 5 µm; Fase móvil A: hidróxido de amonio al 0,02 % en agua (v/v); Fase móvil B: hidróxido de amonio al 0,02 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente de 10 % a 80 % de B durante 6 minutos, después 80 % durante 2 minutos; Caudal: 1,2 ml/minuto. Detección: DAD 220 nm.; Temperatura: 50 °C.

- 45 *Protocolo FB:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 150 x 2,0 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B al 5 % durante 2,0 minutos, de 5 % a 100 % de B durante 10 minutos y B al 100 % durante 2 minutos; Caudal: 0,50 ml/minuto. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Volumen de inyección: 5 µl; Instrumento: Agilent 1200 LCMS.

En algunos casos se hicieron algunas alteraciones menores para análisis CL-EM y HPLC, tales como, pero sin limitación, un cambio en el gradiente o caudal que se indica mediante el símbolo *

Condiciones de HPLC usadas para purificación

- 50 *Procedimiento A:* Columna: Phenomenex Lux Amylose-2, 250 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: Heptano; Fase móvil B: Etanol (desnaturalizado); Gradiente: de 5 % a 100 % de B durante 6 min; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

Procedimiento B: Columna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido acético al 0,02 % en agua; Fase móvil B: ácido acético al 0,02 % en acetonitrilo; Gradiente: B al 5 % durante 1,5 minutos, B del 5 % al

45 % durante 8,5 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

5 *Procedimiento C:* Columna: Phenomenex Luna C18, 100 x 30 mm, 10 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,02 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,02 % en metanol (v/v); Gradiente: B del 10 % al 90 % durante 20 minutos; Caudal: 20 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 210 nm, 254 nm; Volumen de inyección: variable; Instrumento: Gilson.

10 *Procedimiento D:* Columna: Phenomenex Synergi Max-RP, 150 x 21,2 mm, 4 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua; Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo; Gradiente: 30 % de B durante 1,5 minutos, 30 % a 60 % de B durante 8,5 minutos, de 60 a 100 % de B durante 0,5 minutos después 100 % de B durante 2 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

15 *Procedimiento E1:* Columna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua; Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo; Gradiente: 40 % de B durante 1,5 minutos, 40 % a 80 % de B durante 8,5 minutos, de 80 a 100 % de B durante 0,5 minutos después 100 % de B durante 2 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx LCMS.

Procedimiento E2: Columna: Phenomenex Luna Fenil-hexilo, 150 x 21,2 mm, 5 µm. El resto de los protocolos son idénticos a los descritos para el Procedimiento E1.

20 *Procedimiento F:* Columna: Phenomenex Synergi Max-RP, 150 x 21,2 mm, 4 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua; Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en metanol; Gradiente: 44 % de B durante 1,5 minutos, 44 % a 77 % de B durante 8,5 minutos, después B al 77 % durante 10 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx LCMS.

25 *Procedimiento G:* Columna: PrincetonSFC 2-etilpiridina, 250 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: heptano; Fase móvil B: etanol (desnaturalizado); Gradiente: 1 % de B durante 1,5 minutos, B del 1 % al 50 % durante 8,5 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx LCMS.

30 *Procedimiento H:* Columna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido acético al 0,02 % en agua; Fase móvil B: ácido acético al 0,02 % en acetonitrilo; Gradiente: B al 20 % durante 1,5 minutos, B del 20 % al 60 % durante 10,5 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx LCMS.

35 *Procedimiento I:* Columna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua; Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en metanol; Gradiente: B al 40 % durante 1,5 minutos, de 40 % a 70 % de B durante 8,5 minutos después 70 % de B durante 10 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx LCMS.

40 *Procedimiento J:* Columna: Phenomenex Luna C18, 100 x 30 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,02 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,02 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: B del 10 % al 90 % durante 20 minutos; Caudal: 20 ml/minuto. Temperatura: no controlada; Detección: DAD 210 nm, 254 nm; Volumen de inyección: variable; Instrumento: Gilson.

45 *Procedimiento K:* Columna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua; Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo; Gradiente: 20 % de B durante 1,5 minutos, 20 % a 50 % de B durante 8,5 minutos, de 50 a 100 % de B durante 0,5 minutos después 100 % de B durante 2 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx LCMS.

50 *Procedimiento L:* Columna: Phenomenex Luna C18(2), 150 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua; Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo; Gradiente: 30 % de B durante 1,5 minutos, 30 % a 50 % de B durante 8,5 minutos, de 50 a 100 % de B durante 0,5 minutos después 100 % de B durante 2 minutos; Caudal: 27 ml/minuto; Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx LCMS.

55 *Procedimiento M:* Columna: Waters Sunfire, C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,05 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido trifluoroacético al 0,05 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: de 0 a 100 % durante 8,5 minutos. Caudal 25 ml/minuto. Detección: DAD 215 nm; intervalo de EM (+) 160-1000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

Procedimiento N: Columna: Waters Sunfire, C18, 19 x 100 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,05 % en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,05 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: de 0 a 100 % durante 8,5 minutos. Caudal 25 ml/minuto. Detección: DAD 215 nm; intervalo de EM (+) 160-1000 daltons; Instrumento: Waters

FractionLynx.

5 *Procedimiento O:* Columna: Phenomenex Luna C18, 21,2 x150 mm, 5 µm; Fase móvil A: ácido fórmico al 0,1 % en agua (v/v) ácido en agua (v/v); Fase móvil B: ácido fórmico al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente (v/v); Gradiente 20 % de B durante 1,5 minutos, 20 % a 40 % de B durante 8,5 minutos, de 40 a 100 % de B durante 0,5 minutos, después parada a 100 % de B durante 1,5 minutos. Caudal: 27 ml/minuto. Detección: DAD 210-360 nm; intercalo de EM (+) 150-2000 daltons; Instrumento: Waters FractionLynx.

10 *Procedimiento P:* Columna: Phenomenex Gemini C18, 21,2 x 250 mm, 5 µm; Fase móvil A: hidróxido de amonio al 0,225 % en agua (pH 10) (v/v); Fase móvil B: hidróxido de amonio al 0,225 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: de 45 % a 85 % de B durante 10 minutos. Caudal 35 ml/minuto. Detección: DAD 220 nm; intervalo de EM (+) 100-1200 daltons; Instrumento: Shimadzu MS Trigger.

Procedimiento Q: Columna: Phenomenex Synergi C18, 50 x 250 mm, 10 µm; Fase móvil A: ácido trifluoroacético al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: Acetonitrilo; Gradiente de 10 % a 40 % de B durante 25 minutos. Caudal 100 ml/minuto. Detección: UV/Vis 220 nm; Instrumento: Shimadzu LC-8A.

15 *Procedimiento R:* Columna: Phenomenex Luna C18 (2), 250 x 21,2 mm, 5 µm; Fase móvil A: TFA al 0,1 % en agua (v/v); Fase móvil B: TFA al 0,1 % en acetonitrilo (v/v); Gradiente: del 10 % al 100 % durante 30 minutos; Caudal variable. Temperatura: 25 °C; Detección: DAD 215 nm, 254 nm; intervalo de EM (+) 150 - 2000 daltons; Volumen de inyección: 1,8 ml; Instrumento: Agilent 1100 Prep HPLC.

En algunos casos se hicieron algunas alteraciones menores para las condiciones de purificación, tales como, pero sin limitación, un cambio en el gradiente o caudal que se indica mediante el símbolo *.

20 Procedimientos generales

Procedimiento General A: Retirada de Fmoc usando dietilamina o piperidina. A una solución del compuesto que contenía Fmoc en diclorometano o *N,N*-dimetilformamida (también denominada DMF), se añadió un volumen igual de dietilamina o piperidina. El progreso de la reacción se controló por CL-EM (o HPLC o TLC). Los disolventes se retiraron al vacío y en algunos casos el residuo se destiló azeotrópicamente de una a cuatro veces con heptano. Normalmente, el residuo se diluyó con diclorometano y una pequeña cantidad de metanol antes de reducirse sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con metanol en diclorometano (u otra mezcla de disolventes adecuada) para proporcionar el material deseado (o se usó el material en bruto según estaba).

30 *Procedimiento General B:* Retirada de Boc o escisión de *t*-Bu éster usando ácido trifluoroacético. A una solución del compuesto que contenía Boc o el compuesto que contenía *tert*-butil éster en diclorometano a 0 °C (o a temperatura ambiente) se añadió ácido trifluoroacético, para proporcionar una relación 1:4 de ácido trifluoroacético:diclorometano. El progreso de la reacción se controló por CL-EM (o HPLC o TLC). Los disolventes se retiraron al vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente tres veces con heptano para proporcionar el material deseado.

35 *Procedimiento General C:* Retirada de Boc o escisión de *tert*-butil éster (también se refiere a *t*-Bu éster) usando ácido clorhídrico en dioxano. A una solución del compuesto que contenía Boc o compuesto que contenía *tert*-butil éster en dioxano (o en algunos casos sin solución, u otro disolvente pertinente) se añadió una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano. El progreso de la reacción se controló por CL-EM (o HPLC o TLC). La reacción se concentró al vacío y en algunos casos se destiló azeotrópicamente de una a cuatro veces con heptanos.

40 *Procedimiento General D:* Acoplamiento con hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU). A una solución en agitación de la amina (1,0 equiv.) y ácido (1,0-2,0 equiv.) en diclorometano, *N,N*-dimetilformamida (también denominada DMF), o una mezcla de ambas, se añadió HATU (1,0-2,0 equiv.) seguido de trietilamina (2,0-4,0 equiv.) o diisopropiletilamina (2,0-4,0 equiv., también denominada base de Hunig). El progreso de la reacción se controló por CL-EM (o HPLC o TLC); la reacción se completó normalmente en tres horas. Los disolventes se retiraron al vacío. El residuo se purificó por gel de sílice o cromatografía de fase inversa o en algunos casos se destiló azeotrópicamente tres veces con heptanos, se diluyó con una pequeña cantidad de acetato de etilo antes de reducirse sobre sílice o sílice enlazado C18 y se purificó mediante gel de sílice o cromatografía de fase inversa.

50 *Procedimiento General E:* Acoplamiento con *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*⁵-carbamoil-*N*-[4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil]fenil]-*L*-ornitinamida (MalcValCitPABC-PNP). A una mezcla de la carga útil amina (1 equiv.) y *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*⁵-carbamoil-*N*-[4-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil]fenil]-*L*-ornitinamida (MalcValCitPABC-PNP, Solicitud de patente europea (1994), EP624377, 1,0-2,0 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida o dimetilacetamida (también denominada DMA), se añadieron piridina (0,0-4,0 equiv.), diisopropiletilamina (0,0-4,0 equiv.), 2,6-dimetilpiridina (0,0-4,0 equiv., también denominada 2,6-Luditina) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (0,01-1,1 equiv. también denominado HOBT) o 3H-[1,2,3]triazolo[4,5-*b*]piridin-3-ol (0,01-1,1 equiv., también denominado HOAT). Después de agitar a 40 °C-50 °C durante 1-48 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se destiló azeotrópicamente tres veces con heptano. El material en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa y de acuerdo el procedimiento especificado para proporcionar el material

deseado.

Procedimiento general F: Conjugación de anticuerpo HERCEPTIN® comercial con carga útil de engarce mediante disulfuros internos. Se dializó anticuerpo HERCEPTIN® disponible en el mercado (Genentech Inc) en solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (DPBS, Lonza). El anticuerpo dializado se redujo con la adición de x equivalentes de clorhidrato de tris(2-carboxietil)fosfina (TCEP, 5 mM en agua destilada) y se diluyó a una concentración de anticuerpo final de 15 mg/ml usando DPBS, ácido 2,2',2'',2'''-(etano-1,2-diildinitrilo)tetraacético 5 mM (EDTA), pH 7,0-7,4 (Tampón A). La reacción se incubó a 37 °C durante 1-2 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. La conjugación se realizó mediante la adición de y equivalentes de carga útil de engarce (5-10 mM en dimetilacetamida (DMA)). Se añadió DMA para alcanzar un 10-20 % (v/v) de componente de disolvente orgánico total en la mezcla de reacción final, y se añadió el Tampón A para alcanzar una concentración de anticuerpo final de 10 mg/ml. La reacción se incubó durante 1-2 horas a temperatura ambiente. Después, se cambió el tampón de la mezcla de reacción en DPBS (pH 7,4) usando columnas de intercambio de tampón GE Healthcare Sephadex G-25 M según las instrucciones del fabricante. El material en bruto se purificó por cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) usando un sistema GE AKTA Explorer con una columna GE Superdex y eluyente de PBS (pH 7,4).

Procedimiento general G: Las reacciones de conjugación se realizaron en la porción superior de un dispositivo de ultrafiltración centrífugo, tal como filtros Amicon Ultra 50k Ultracel (*n.º de pieza UFC805096*, GE). Se preparó una solución madre 132 mM de L-cisteína en PBS que contenía EDTA 50 mM. Esta solución (50 µl) se añadió a una mezcla del anticuerpo mutante respectivo (5 mg) en 950 µl de PBS que contenía EDTA de 50 mM. La concentración de cisteína final en la mezcla de reacción fue 6,6 mM. Después de permitir que la reacción reposara a temperatura ambiente (aproximadamente 23 °C) durante 1,5 horas, el tubo de reacción se centrifugó para concentrar el material a aproximadamente 100 µl. La mezcla se diluyó a 1 ml con PBS que contenía EDTA 50 mM. Este procedimiento se repitió 4 veces para retirar todo el reductor de cisteína. El material resultante se diluyó a 1 ml en PBS que contenía EDTA 50 mM y se trató con 16 µl de una solución 5 mM de la carga útil de engarce de maleimida (de la **Tabla 18A**) en dimetil acetamida (DMA) (aproximadamente 5 equivalentes). Después de reposar a temperatura ambiente (aproximadamente 23 °C) durante 1,5 horas, el tubo de reacción se centrifugó para concentrar el material a aproximadamente 100 µl. La mezcla se diluyó a 1 ml con PBS. Este procedimiento se repitió 2 veces para retirar el exceso de reactivo de maleimida. Los conjugados de anticuerpo se purificaron generalmente cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) usando un sistema GE AKTA Explorer con una columna GE Superdex200 y un eluyente de PBS (pH 7,4). La carga del fármaco en el sitio de conjugación pretendido se determinó usando una diversidad de procedimientos, incluyendo espectrometría de masas (EM), HPLC de fase inversa y cromatografía de interacción hidrófoba (HIC), como se describe en cualquier otra parte. El valor indicado (en las **Tablas 19A** y **19B**) se obtiene generalmente por CL-EM en condiciones de reducción.

Procedimiento general H: Una solución 20 mM de TCEP (generalmente de 50 a 100 equivalentes molares) se añadió al anticuerpo (típicamente 5 mg) de manera que la concentración final de anticuerpo fue 5 mg/ml en PBS que contenía EDTA 50 mM. Después de dejar que la reacción reposara a 37 °C durante 1,5 horas, se cambió el tampón del anticuerpo en PBS que contenía EDTA 50 mM usando un dispositivo de concentración por centrifugación de separación a 50 kD MW (lavados de 3 x 3 ml, 10 x concentración por ciclo). En circunstancias particulares, también son útiles procedimientos alternativos, tales como TFF o diálisis. El anticuerpo resultante se resuspendió en 1 ml de PBS que contenía EDTA 50 mM y se trató con una solución 50 mM recién preparada de DHA (deshidroascorbato) en 1:1 de PBS/EtOH (la concentración final de DHA es típicamente 1 mM) y se dejó reposar a 4 °C durante una noche. Se cambió el tampón de la mezcla de anticuerpo/DHA en PBS que contenía EDTA 50 mM usando un dispositivo de concentración por centrifugación de separación a 50 kD MW (lavados de 3 x 3 ml, 10 x concentración por ciclo). El anticuerpo resultante se resuspendió en 1 ml de PBS que contenía EDTA 50 mM y se trató con carga útil de engarce de maleimida 10 mM en DMA (típicamente 5-10 equivalentes). Después de reposar durante 1,5 horas, se cambió del tampón del material (como anteriormente) en 1 ml de PBS (lavados de 3 x 3 ml, 10x concentración por ciclo). La purificación por SEC (como se ha descrito previamente) se realizó según se necesitó para retirar cualquier material agregado.

Procedimiento general I: La conjugación inicial de la carga útil de engarce se realizó usando el procedimiento descrito previamente (Procedimiento General F). Se cambió el tampón del conjugado de anticuerpo-fármaco resultante en un tampón borato 50 mM (pH 9,2) usando un dispositivo de ultrafiltración (separación 50 kd MW). La solución resultante se calentó a 37 °C durante 24 horas (para los engarces de maleimida-Peg) o a 45 °C durante 48 horas (para los engarces de maleimida-caproilo). La solución resultante se enfrió, se cambió su tampón a PBS y se purificó por SEC (como se ha descrito previamente) para retirar cualquier material agregado. El análisis de CLEM del material indicó que el anillo de succinimida se había abierto por completo (90 % o más). Obsérvese que en los ejemplos en los que un éster metílico está presente en la carga útil, el éster se hidroliza en el ácido carboxílico en las condiciones descritas.

Procedimiento general J: Los ésteres de pentafluorofenilo se conjugaron con el anticuerpo mostrado siguiendo el procedimiento indicado previamente en el documento WO2012007896 A1.

Procedimiento general K: La conjugación de engarces de amino-alquilo son completó mediante una ligadura mediada por enzima como se describe en el documento WO2012059882 A2.

5 *Procedimiento General L.* Se acopló *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-{(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (preparada de la misma manera que el n.º 136) al resto de amina o aminoácido pertinente usando HATU (1,0-2,0 equiv.) en presencia de base de Hunig (1-5,0 equiv.) en una solución de DMF, diclorometano, o en algunos casos una solución de ambos (o una solución de uno o más disolventes). La reacción se controló por CL-EM (o TLC o HPLC). La reacción se concentró al vacío y se purificó normalmente mediante cromatografía de sílice o por HPLC prep. Después, se retiró la protección de Fmoc como se ha descrito en el procedimiento general A, seguido de concentración al vacío y se purificó por cromatografía de sílice o por HPLC prep.

10 *Procedimiento General M.* El n.º 151 se acopló a la amina pertinente usando HATU (1,0-2,0 equiv., u otro reactivo de acoplamiento adecuado) en presencia de base de Hunig (1,0-5,0 equiv.) en una solución de DMF, diclorometano, o en algunos casos una solución de ambos (o una solución de uno o más disolventes). La reacción se controló por CL-EM (o TLC o HPLC). La reacción se concentró al vacío. Después, se realizó la desprotección de Boc como se ha descrito en el procedimiento general B, se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de sílice o por HPLC prep.

15 *Procedimiento General N.* Se acopló ácido 1-(9H-fluoren-9-il)-3-oxo-2,7,10,13,16,19,22-heptaoxa-4-azapentacosan-25-oico (u otro Fmoc-AmPegXC2-COOH adecuado) al pentapéptido citotóxico pertinente (o el pentapéptido citotóxico que contiene un grupo protector en un resto reactivo distinto del término *N*) usando HATU (1,0-2,0 equiv., u otro reactivo de acoplamiento adecuado) en presencia de base de Hunig (1,0-5,0 equiv. u otra base adecuada) en una solución de DMF, diclorometano, o en algunos casos una solución de ambos (o una solución de uno o más disolventes). La reacción se controló por CL-EM (o TLC o HPLC). La reacción se concentró al vacío. La desprotección de Fmoc se realizó de acuerdo con procedimiento general A. En algunos casos se realizó una segunda desprotección para retirar a grupo protector en un resto reactivo en el pentapéptido citotóxico usando el procedimiento general B (u otro procedimiento pertinente conocido en las referencias basado en el grupo protector). La reacción se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de sílice o por HPLC prep.

25 *Procedimiento General O.* El Fmoc-AmPegXC2-COOH adecuado se acopla al pentapéptido citotóxico pertinente (o el pentapéptido citotóxico que contiene un grupo protector en un resto reactivo distinto del término *N*) y la desprotección de Fmoc se realiza de acuerdo con el procedimiento general N. La reacción se concentra al vacío y después se purifica por cromatografía de sílice o HPLC prep. (o el material en bruto puede usarse según está). Después, se instala la secuencia de PABC adecuada (tal como mcValCitPABC, o un derivado) de acuerdo con el procedimiento general E. En algunos casos, si está presente un grupo protector en una porción de pentapéptido citotóxico de la molécula, se realiza después la desprotección usando el procedimiento general A o el procedimiento general B (u otro procedimiento pertinente conocido en las referencias basado en el grupo protector). La reacción se concentra al vacío y se purifica por cromatografía de sílice o por HPLC prep.

30 *Procedimiento General P.* Se siguió el procedimiento general E reemplazado mcValCitPABC-PNP, con MalPeg3C2ValCitPABC-PNP (preparado de una manera similar a mcValCitPABC-PNP).

35 *Procedimiento General Q.* El Fmoc-AmPegXC2-COOH adecuado se acopla al pentapéptido citotóxico pertinente (o el pentapéptido citotóxico que contiene un grupo protector en un resto reactivo distinto del término *N*) y la desprotección de Fmoc se realiza como se describe en el procedimiento general N. La reacción se concentra al vacío y después se purifica por cromatografía de sílice o HPLC prep. (o el material en bruto puede usarse según está). A una solución en agitación de este residuo en DMF a 0 °C (o una temperatura ligeramente mayor en algunos casos) se añadió ácido bromoacético (1,0-2,0 equiv.), seguido de base de Hunig (1,0-5,0 equiv.) y HATU (1,0-2,0 equiv.) La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y en agitación a temperatura ambiente mientras se controlaba por CL-EM (o TLC o HPLC). La reacción se concentró al vacío y se purificó por HPLC prep.

40 *Procedimiento General R.* Se siguió el procedimiento general E reemplazando mcValCitPABC-PNP, con *N*-(6-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino)hexanoil)-L-valil-*N*-5~-carbamoil-*N*-[4-[(4-nitrofenoxi)carbonil]oxi]metil]fenil]-L-ornitinamida (preparada de una manera similar a mcValCitPABC-PNP). Después, se realizó la desprotección de Fmoc (procedimiento general B), seguido de purificación de HPLC prep.

45 *Procedimiento General S.* A una solución en agitación de 6-(2,5-dioxa-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanal (1,0-3,0 equiv.) en metanol se añadió el pentapéptido citotóxico pertinente (1,0 equiv.), seguido de ácido fórmico. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1-40 minutos, seguido de la adición de (cianokappaC)(trihidrido)borato sódico (1-) (3,0-6,0 equiv., también denominado cianborohidruro sódico). La reacción se controló por CL-EM (o TLC o HPLC). En algunos casos se añadió más cantidad de 6-(2,5-dioxa-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanal (1,0-3,0 equiv.). La reacción se concentró al vacío seguido de purificación usando HPLC prep.

50 *Procedimiento general T.* Se prepara 4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]anilinio según se describe en las referencias (Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters. 2012, vol. 22, n.º 13, 4249 - 4253) que después se acopla a 3,3'-[etano-1,2-diilbis(oxi)]dipropanoato de bis(pentafluorofenilo) usando HATU en diclorometano, seguido de acoplamiento al pentapéptido citotóxico deseado. Después, el material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general U. Se acopla Fmoc-ValCitPABC-PNP al pentapéptido citotóxico deseado siguiendo el procedimiento general E y después se retira el Fmoc siguiendo el procedimiento general A. Después, este residuo se acopla a ácido [2-oxo-2-({4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]fenil}amino) etoxi]acético (que se prepara por acoplado 4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]anilinio con 1,4-dioxano-2,6-diona, siguiendo el procedimiento general D). Después, el material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general V. Se acopla 3,3'-[etano-1,2-diilbis(oxi)]dipropanoato de bis(pentafluorofenilo) o 4,7,10,13,16-pentaoxonadecano-1,19-dioato de bis(pentafluorofenilo) al pentapéptido citotóxico deseado (o en algunos casos se acopla al pentapéptido citotóxico deseado que contiene un grupo protector en un resto reactivo distinto del término N), siguiendo el procedimiento general D. Si hay presente un grupo protector, se retira entonces el grupo protector (usando los procedimientos pertinentes descritos en las referencias). Después, el material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general W. Se acopla 1-(9H-fluoren-9-il)-3-oxo-2,7,10-trioxa-4-azatridecan-13-oato de 4-(((4-nitrofenoxi)carbonil]oxi]metil]fenil) al pentapéptido citotóxico deseado, siguiendo el procedimiento general E. Se retira Fmoc siguiendo el procedimiento general A. Se acopla 3,3'-[etano-1,2-diilbis(oxi)]dipropanoato de bis(pentafluorofenilo) a este residuo, siguiendo el procedimiento general D. Después, el material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general X1. Se acopla N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-alanil-L-alanil-N~1~-[4-(((4-nitrofenoxi)carbonil]oxi]metil]fenil]-N~4tritol-L-aspartamida al pentapéptido citotóxico, siguiendo el procedimiento general E. Se retira Fmoc siguiendo el procedimiento general A y se retira el grupo protector de tritilo siguiendo el procedimiento general B. Se acopla 3,3'-[etano-1,2-diilbis(oxi)]dipropanoato de Bis(pentafluorofenilo) a este residuo siguiendo el procedimiento general D. El material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general X2. Se acopla N-[3-[2-(3-etoxi-3-oxopropoxi)etoxi]propanoil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(((4-nitrofenoxi)carbonil]oxi]metil]fenil]-L-ornitinamida al pentapéptido citotóxico deseado siguiendo el procedimiento general E. Se retira éster etílico usando hidróxido de litio en THF y agua. Después se forma éster de NHS acoplado el residuo con 1-hidroxipirrolidin-2,5-diona usando N,N'-diciclohexilcarbodiimida en THF. El material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general X3. Se acopla N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-D-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(((2-carboxipropan-2-il)carbamoil]oxi]metil]fenil]-L-ornitinamida se acopla al n.º 50 siguiendo el procedimiento general D en DMSO y acetonitrilo. Se retira Fmoc siguiendo el procedimiento general A, seguido de acoplamiento con 3,3'-[etano-1,2-diilbis(oxi)]dipropanoato de bis(pentafluorofenilo) usando base de Hunig en acetonitrilo. El material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general X4. Se acopla N-[1-(9H-fluoren-9-il)-3,5,12-trioxa-2,7,10-trioxa-4-azadodecan-12-il]-2-metilalanina al n.º 250 siguiendo el procedimiento general D en acetonitrilo. Se retira Fmoc siguiendo el procedimiento general A, seguido de acoplamiento con 3,3'-[etano-1,2-diilbis(oxi)]dipropanoato de bis(pentafluorofenilo) usando base de Hunig en acetonitrilo. El material se purifica por HPLC prep.

Procedimiento general X5. Se acopla L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-(hidroximetil]fenil]-L-ornitinamida a N~2~-acetil-N~6~-((terc-butoxicarbonil)-L-lisina siguiendo el procedimiento general D. Este residuo resultante se acopla con bis(4-nitrofenil)carbonato con base de Hunig en DMF, seguido de acoplamiento con el pentapéptido citotóxico deseado siguiendo el procedimiento general E. Después, se realiza la desprotección de Boc siguiendo el procedimiento general B en acetonitrilo. El residuo se purifica por HPLC prep.

En algunos casos, se hicieron alteraciones menores a las condiciones de reacción, tales como, pero sin limitación, el orden de la adición del reactivo y el disolvente y/o la cantidad de reactivo o reactante, que se indica mediante el símbolo *. Por otro lado, estos procedimientos generales se proporcionan únicamente como ejemplares y son no limitantes.

Además de los Procedimientos Generales proporcionados anteriormente, las referencias de auristatina y dolastatina pertinentes incluyen las siguientes: Petit y col. J. Am. Chem. Soc. 1989, 111,5463; Petit y col. AntiCancer Drug Design 1998, 13, 243 y referencias citadas en ese documento; Petit y col. J. Nat. Prod. 2011, 74, 962; documento WO 96/33212; documento WO 95/09864; documento EP 0695758; documento WO 07/8848; documento WO 01/18032; documento WO 09/48967; documento WO 09/48967; documento WO 09/117531; documento WO 08/8603; documento US 7.750.116; documento US 5.985.837; y documento US 2005/9751.

Análisis de EM y preparación de la muestra

Las muestras se prepararon para análisis de CL-EM combinando aproximadamente 20 µl de muestra (aproximadamente 1 mg/ml de ADC en PBS) con 20 µl de ditiotreitol 20 mM (DTT). Después de dejar reposar la mezcla a temperatura ambiente durante 5 minutos, las muestras se analizaron de acuerdo con el protocolo O.

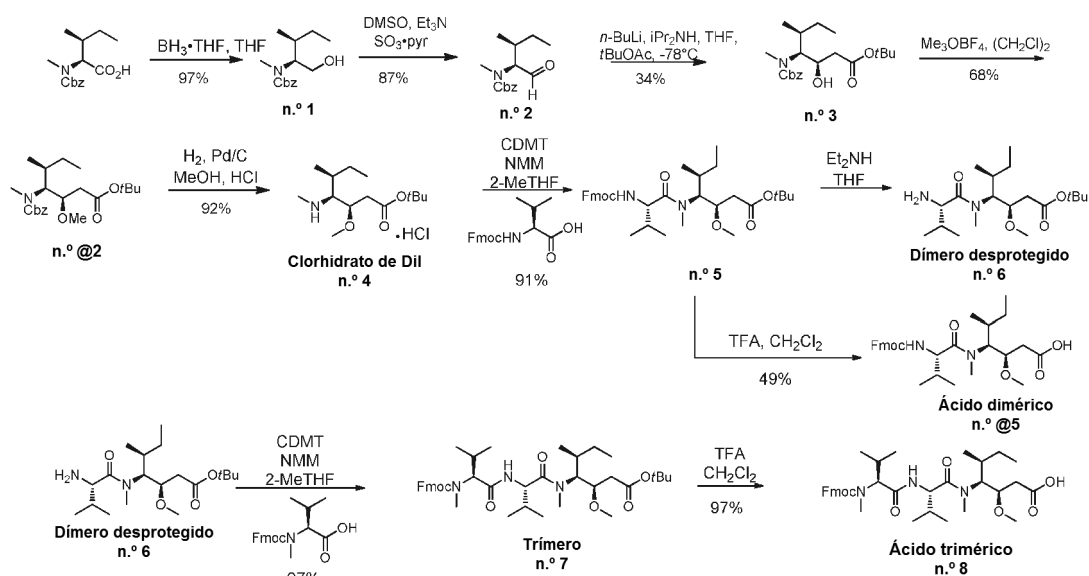
Se realizó el siguiente cálculo para establecer la carga total (DAR) del conjugado:

$$\text{Carga} = 2 \times [\text{LC1}/(\text{LC1}+\text{LC0})] + 2 \times [\text{HC1}/(\text{HC0}+\text{HC1}+\text{HC2}+\text{HC3})] + 4 \times [\text{HC2}/(\text{HC0}+\text{HC1}+\text{HC2}+\text{HC3})] + 6 \times [\text{HC3}/(\text{HC0}+\text{HC1}+\text{HC2}+\text{HC3})]$$

5 Donde las variables indicadas son la abundancia relativa de: LC0 = cadena ligera descargada, LC1 = cadena ligera con carga única, HC0 = cadena pesada descargada, HC1 = cadena pesada con carga única, HC2 = cadena pesada de doble carga y HC3 = cadena pesada de triple carga.

Las condiciones de CL-EM usadas son el Protocolo F para un tiempo de retención por debajo de un minuto y el Protocolo H para el resto de los experimentos, a menos que se indique otra cosa.

Preparación de *N*-[(9*H*-Fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-*L*-valil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (n.º 8)



10

Etapa 1. Síntesis de [(2*S*,3*S*)-1-hidroxi-3-metilpentan-2-il]metilcarbamato de bencilo (n.º 1). A una solución de *N*-[(benciloxi)carbonil]-*N*-metil-*L*-isoleucina (52,37 g, 187,5 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (524 ml, 0,35 M) se añadió complejo de borano-tetrahidrofurano (1 M en tetrahidrofurano, 375 ml, 375 mmol, 2 equiv.) lentamente durante 1 hora y la reacción se dejó en agitación durante 18 horas a temperatura ambiente. La reacción se enfrió a 0 °C y se añadió agua (30 ml) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con una solución acuosa 1 M de carbonato sódico (100 ml) y *tert*-butil metil éter (250 ml). La fase acuosa se extrajo de nuevo con *tert*-butil metil éter (100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa 1 M de carbonato sódico (100 ml), se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar n.º 1 (48,44 g, rendimiento del 97 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), se presume que es una mezcla de rotámeros: δ 7,26-7,41 (m, 5H), [5,06 (AB cuadruplete, $J_{\text{AB}} = 12,9$ Hz, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 22,8$ Hz) y 5,06 (AB cuadruplete, $J_{\text{AB}} = 9,0$ Hz, $\Delta\nu_{\text{AB}} = 9,0$ Hz), total 2H], [4,65 (t, $J = 5,3$ Hz) y 4,59 (t, $J = 5,4$ Hz), total 1H], 3,67-3,80 (m, 1H), 3,51-3,60 (m, 1H), 3,41-3,51 (m, 1H), 2,75 y 2,71 (2 s, total 3H), 1,49-1,64 (m a, 1H), 1,24-1,37 (m a, 1H), 0,90-1,02 (m a, 1H), 0,74-0,87 (m, 6H).

15 **Etapa 2.** Síntesis de metil[(2*S*,3*S*)-3-metil-1-oxopentan-2-il]carbamato de bencilo (n.º 2). A una solución de n.º 1 (8,27 g, 31,2 mmol, 1 equiv.) en dimetilsulfóxido (41,35 ml, 0,75 M), se añadió trietilamina (8,70 ml, 64,0 mmol, 2,05 equiv.) y la mezcla se enfrió a 0 °C. Después, se añadió en porciones complejo de trióxido de azufre y piridina (10,18 g, 63,96 mmol, 2,05 equiv.), mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 8 °C. Se dejó que la reacción alcanzara temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La reacción se vertió en agua (100 ml) y *tert*-butil metil éter (100 ml). La fase acuosa se extrajo de nuevo con *tert*-butil metil éter (50 ml) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío, y se purificaron por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 10 % a 60 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar n.º 2 (7,14 g, 87 %) en forma de un aceite incoloro. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 9,61 (s, 1H), 7,26-7,42 (m, 5H), 5,01-5,13 (m, 2H), 4,04-4,12 (m, 1H), 2,86 y 2,82 (2 s, total 3H), 1,94-2,11 (m a, 1H), 1,26-1,42 (m a, 1H).

25 **Etapa 3.** Síntesis de (3*R*,4*S*,5*S*)-4-[[[(benciloxi)carbonil](metil)amino]-3-hidroxi-5-metilheptanoato de *tert*-butilo (n.º 3). Se preparó diisopropilamina de litio se preparó añadiendo *n*-butillitio (solución 2,5 M en tetrahidrofurano, 35,9 ml, 89,8 mmol, 1,4 equiv.) a una solución de diisopropilamina (13,8 ml, 96,3 mmol, 1,5 equiv.) en tetrahidrofurano (50 ml, 1,3 M) a -78°C . Después de 1 hora, se añadió gota a gota acetato de *tert*-butilo (15,7 ml, 116 mmol, 1,8 equiv.) y la

mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas más mientras se dejaba que se calentara lentamente a -20 °C. La mezcla de reacción se enfrió de nuevo a -78 °C y se añadió una solución del aldehído **n.º 2** (16,9 g, 64,2 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (10 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas y después se inactivó mediante la adición de agua (100 ml). Después de la extracción con éter dietílico (2 x 100 ml), las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío y se purificaron por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 20 % de acetona en heptano) para proporcionar **n.º 3** (8,4 g, 34 %) en forma de un aceite incoloro. CL-EM: *m/z* 402,4 [M+Na⁺], tiempo de retención = 3,91 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), se presume que es una mezcla de rotámeros: δ 7,27-7,39 (m, 5H), 5,01-5,12 (m, 2H), [4,93 (d, *J* = 7,2 Hz) y 4,98 (d a, *J* = 7,2 Hz), total 1H], 4,03-4,15 (m a, 1H), 3,68-3,85 (m a, 1H), 2,65 y 2,72 (2 s a, total 3H), 2,28-2,37 (m, 1H), 2,09-2,17 (m, 1H), 1,74-1,90 (m a, 1H), 1,41-1,51 (m, 1H), 1,39 (s, 9H), 0,92-1,01 (m, 1H), 0,77-0,92 (m, 6H).

Etapa 4. Síntesis de (3R,4S,5S)-4-[[benciloxi]carbonil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoato de *tert*-butilo (**n.º @2**). A una solución de **n.º 3** (8,4 g, 22 mmol, 1 equiv.) en 1,2-dicloroetano (25 ml, 0,88 M) se añadieron tamices moleculares (4 Å, 0,7 g) y Proton Sponge (1,8-bis(dimetilamino)naftaleno) (13,4 g, 59,2 mmol, 2,7 equiv.), seguido de tetrafluoroborato de trimetiloxonio (9,10 g, 61,6 mmol, 2,8 equiv.). Después de agitar durante una noche, la mezcla de reacción se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 40 % de 1:1 de acetona:acetato de etilo en heptano) para dar **n.º @2** (8,7 g, 68 %) en forma de un aceite incoloro. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), se presume que es una mezcla de rotámeros: δ 7,28-7,40 (m, 5H), 5,01-5,13 (m, 2H), 3,89-4,08 (m a, 1H), 3,70-3,82 (m, 1H), 3,18 y 3,26 (2 s, total 3H), 2,66 y 2,71 (2 s a, total 3H), 2,44-2,53 (m, 1H, asumido; parcialmente oscurecido por pico de disolvente), 2,17-2,24 (m, 1H), 1,71-1,86 (m a, 1H), 1,39 y 1,39 (2 s, total 9H), 1,31-1,40 (m, 1H), 0,94-1,08 (m, 1H), 0,76-0,91 (m, 6H).

Etapa 5. Síntesis de (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-(metilamino)heptanoato de *tert*-butilo, sal clorhidrato (**n.º 4**). A una solución de **n.º @2** (13,37 g, 33,98 mmol, 1 equiv.) en metanol (134 ml, 0,1 M) y ácido clorhídrico concentrado (3,1 ml, 37,4 mmol, 1,1 equiv.) se añadió paladio al 10 % sobre carbono (50 % húmedo) (0,1 % en peso; 1,34 g, 3,40 mmol). La mezcla se hidrogenó a 0,34 MPa (45 psi) durante 3 horas, después se purgó con nitrógeno, se filtró a través de Celite y se concentró al vacío para proporcionar **n.º 4** (9,20 g, 92 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 9,65 (s a, 1H), 8,97 (s a, 1H), 3,98-4,04 (m, 1H), 3,40 (s, 3H), 3,06-3,13 (m a, 1H), 2,82 (dd a, *J* = 6, 5 Hz, 3H), 2,74-2,80 (m, 1H), 2,68 (dd, mitad del patrón ABX, *J* = 16,3, 4,2 Hz, 1H), 2,00-2,10 (m a, 1H), 1,73-1,84 (m, 1H), 1,46 (s, 9H), 1,38-1,45 (m, 1H), 1,13 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,99 (t, *J* = 7,4 Hz, 3 H).

Etapa 6. Síntesis de (3R,4S,5S)-4-[[N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoato de *tert*-butilo (**n.º 5**). A una mezcla de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valina (18,53 g, 54,60 mmol, 1,3 equiv.) y 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT) (9,58 g, 54,6 mmol, 1,3 equiv.) en 2-metiltetrahidrofurano (118,00 ml, 0,34 M) se añadió *N*-metilmorfolina (6,52 ml, 59,1 mmol, 1,5 equiv.) seguido de **n.º 4** (11,80 g, 39,9 mmol, 1 equiv.). Después de 3 horas, la reacción se interrumpió con agua (50 ml) y se agitó durante 15 minutos. La fase acuosa se separó y se extrajo de nuevo con 2-metiltetrahidrofurano (50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (50 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para dar un aceite incoloro, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 5 % a 40 % de acetato de etilo en heptano) para dar **n.º 5** (26,2 g, 91 %) en forma de una espuma incolora. CL-EM (Protocolo I) *m/z* 581,3 [M+H⁺] 604,3 [M+Na⁺], tiempo de retención = 4,993 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), posiblemente una mezcla de rotámeros, señales características principales: δ 7,88 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,71 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,62 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,41 (dd, *J* = 7,4, 7,4 Hz, 2H), 7,27-7,34 (m, 2H), 4,13-4,32 (m, 4H), 3,70-3,82 (m a, 1H), 3,24 (s, 3H), 2,92 (s a, 3H), 2,54 (dd, *J* = 15,7, 2,4 Hz, 1H), 2,17 (dd, *J* = 15,4, 9,4 Hz, 1H), 1,95-2,07 (m, 1H), 1,70-1,83 (m a, 1H), 1,40 (s, 9H), 0,83-0,94 (m, 9H), 0,69 (t, *J* = 7,2 Hz, 3 H).

Etapa 7A. Síntesis de (3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoato de *tert*-butilo (**n.º 6**). A una solución de **n.º 5** (26 g, 42 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (260 ml, 0,16 M) se añadió dietilamina (22 ml) durante 30 minutos. La reacción se agitó durante aproximadamente 6 horas y después, la suspensión se filtró a través de Celite y se lavó con más cantidad de tetrahidrofurano (25 ml). El filtrado se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color amarillo pálido, que se disolvió de nuevo en 2-metiltetrahidrofurano (50 ml) y se concentró de nuevo para asegurar la retirada completa de la dietilamina. El aceite en bruto de **n.º 6** (>15,25 g) se recogió en la siguiente etapa sin purificación adicional.

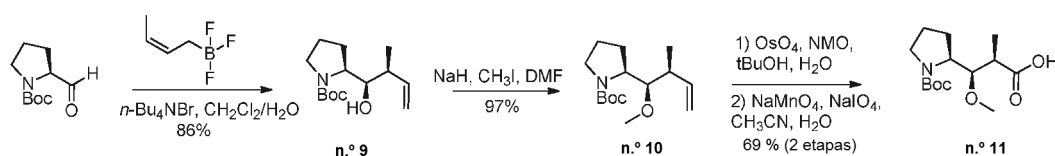
Etapa 7B. Síntesis de ácido (3R,4S,5S)-4-[[N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valil] (metil) amino]-3-metoxi-5-metilheptanoico (**n.º @5**). De acuerdo con procedimiento general B, a partir de **n.º 5** (1,62 g, 2,79 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,3 M) y ácido trifluoroacético (3 ml) se sintetizó **n.º @5** (1,42 g, 97 %) en forma de un sólido que se usó sin purificación adicional. CL-EM *m/z* 525,3 [M+H⁺] 547,3 [M+Na⁺]; tiempo de retención = 0,95 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), señales características: δ 7,89 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 7,71 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,59 (d, *J* = 8,8 Hz, 1H), 7,41 (dd, *J* = 7,6, 7,4 Hz, 2H), 7,28-7,34 (m, 2H), 4,14-4,32 (m, 4H), 3,24 (s, 3H), 2,92 (s a, 3H), 2,51-2,57 (m, 1H, supuesto; parcialmente oscurecido por pico de disolvente), 2,20 (dd, *J* = 15,9, 9,5 Hz, 1H), 1,95-2,06 (m, 1H), 1,70-1,83 (m a, 1H), 1,22-1,36 (m a, 1H), 0,84-0,93 (m, 9H), 0,70 (t, *J* = 7,3 Hz, 3 H).

Etapa 8. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-*tert*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 7**). A una mezcla de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valina (19,54 g, 55,29 mmol, 1,3 equiv.) y **n.º 6** (15,25 g, 42,54 mmol, 1 equiv.) en 2-metiltetrahidrofurano (152 ml, 0,28 M) se añadió 2-cloro-4,6-dimetoxi-1,3,5-triazina (CDMT) (9,71 g, 55,3 mmol, 1,3 equiv.). Después de 10 minutos, se

añadió lentamente *N*-metilmorfolina (6,6 ml, 60 mmol, 1,4 equiv.), mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 25 °C. La reacción se agitó durante 4 horas y después se interrumpió mediante la adición de agua (50 ml). Después de agitar durante 15 minutos, la fase acuosa se separó y se extrajo de nuevo con 2-metiltetrahidrofurano (50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (100 ml), después se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío. La espuma de color amarillo resultante se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 5 % a 35 % de acetato de etilo en heptano) para dar **n.º 7** (32 g, 97 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,89 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,62 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,41 (dd a, *J* = 7,4, 7,4 Hz, 2H), 7,29-7,34 (m, 2H), 4,52-4,69 (m a, 1H), 3,70-3,82 (m a, 1H), 3,22 y 3,25 (2 s a, total 3H), 2,94 y 2,96 (2 s a, total 3H), 2,78 y 2,81 (2 s a, total 3H), 2,11-2,23 (m, 1H), 1,90-2,10 (m, 2H), 1,68-1,83 (m a, 1H), 1,40 (s, 9H), 1,21-1,33 (m a, 1H).

Etapa 9. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 8**). A **n.º 7** (32 g, 46 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (160 ml, 0,29 M) se añadió gota a gota durante 10 minutos ácido trifluoroacético (17,4 ml, 231 mmol, 5 equiv.). Después de 6 horas, se añadió la misma cantidad de ácido trifluoroacético y la reacción se continuó durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con tolueno (320 ml) y se concentró al vacío para proporcionar **n.º 8** (35,8 g, 97 %) en forma de un aceite de color rosáceo, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,90 (d, *J* = 7,0 Hz, 2H), 7,62 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,41 (dd a, *J* = 7,4, 7,0 Hz, 2H), 7,29-7,35 (m, 2H), 4,54-4,68 (m a, 1H), [4,09 (d, *J* = 11 Hz) y 4,22 (d, *J* = 10,9 Hz), total 1H], 3,74-3,84 (m a, 1H), 3,22 y 3,24 (2 s a, total 3H), 2,94 y 2,96 (2 s a, total 3H), 2,78 y 2,80 (2 s a, total 3H), 2,13-2,24 (m, 1H), 1,89-2,10 (m a, 2H), 1,70-1,81 (m a, 1H).

Preparación de ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (**n.º 11**; "Boc-Dap-ácido")



Etapa 1. Síntesis de (2S)-2-[(1R,2S)-1-hidroxi-2-metilbut-3-en-1-il]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (**n.º 9**). A una solución de (2S)-2-formilpirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (10 g, 50 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (120 ml, 0,42 M) se añadió (2Z)-2-buten-1-iltrifluoroborato potásico (9,76 g, 60,2 mmol, 1,2 equiv.), seguido de bromuro de tetra-*n*-butilamonio (3,24 g, 5,02 mmol, 0,1 equiv.) y agua (60 ml). Después de 13 horas, la reacción se diluyó con diclorometano (150 ml) y agua (150 ml). La fase acuosa se separó y se extrajo de nuevo con diclorometano (100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa de cloruro sódico (5 % en peso, 200 ml), se lavaron con agua (200 ml) y se concentraron al vacío para proporcionar **n.º 9** (~13 g) en forma de un aceite de color naranja, que se usó sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 5,61-5,86 (m a, 1H), 4,97-5,09 (m, 2H), 3,80-3,98 (m a, 2H), 3,45-3,67 (m a, 1H), 3,21-3,29 (m, 1H), 2,14-2,26 (m, 1H), 1,80-2,04 (m, 3H), 1,65-1,76 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,12 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H).

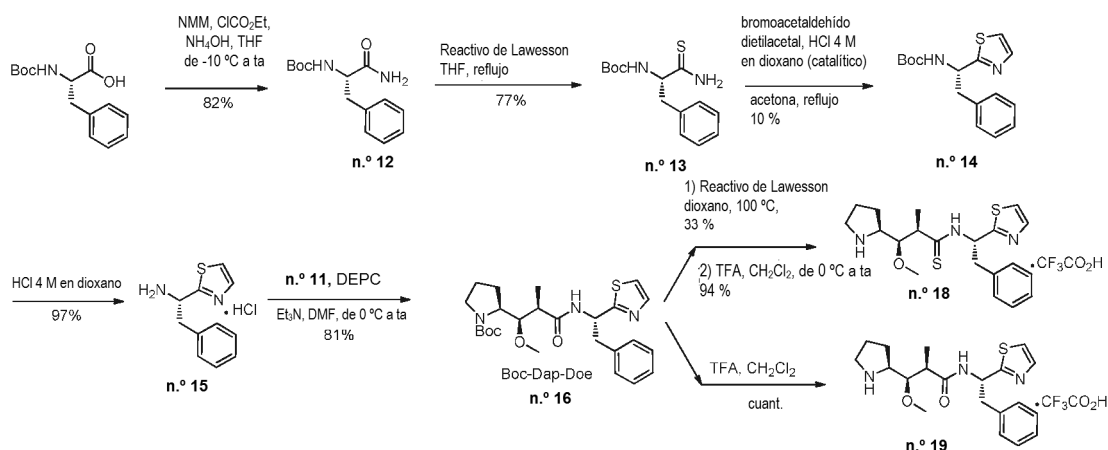
Etapa 2. Síntesis de (2S)-2-[(1R,2S)-1-metoxi-2-metilbut-3-en-1-il]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (**n.º 10**). Se combinó hidruro sódico (al 60 % en aceite mineral, 3,38 g, 84,4 mmol, 1,1 equiv.) con hexano (40 ml) y la mezcla se sometió a agitación mecánica rápida durante 5 minutos. Se dejó que los sólidos se asentaran y el hexano se retiró. Este procedimiento se repitió dos veces para retirar aceite mineral. Se añadió *N,N*-dimetilformamida (59 ml, 1,3 M) y la mezcla se enfrió a 0 °C; después se añadió gota a gota yoduro de metilo (5 ml; 81 mmol, 1,05 equiv.), seguido de la adición gota a gota de una solución de **n.º 9** (19,6 g, 76,8 mmol, 1 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida (59 ml) durante 5 minutos, mientras se mantenía la temperatura entre 0 °C y 5 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 2 horas. La reacción se interrumpió con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (150 ml), se vertió en una solución acuosa de cloruro sódico (5 % en peso, 300 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa al 10 % de cloruro sódico (2 x 300 ml), se lavaron con agua (200 ml) y se concentraron al vacío. El aceite humedecido con agua resultante se concentró de nuevo en acetato de etilo (150 ml) y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 2 % a 10 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 10** (15,0 g, 73 %) en forma de un aceite incoloro. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), presuntamente una mezcla de rotámeros: δ 5,60-5,83 (m, 1H), 4,91-5,06 (m, 2H), 3,81-3,95 (m a, 1H), 3,43 (s, 3H), 3,36-3,61 (m, 2H), 3,19-3,31 (m, 1H), 2,09-2,21 (m, 1H), 1,86-2,02 (m a, 2H), 1,62-1,85 (m a, 2H), 1,47 y 1,49 (2 s, total 9H), 1,09 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H).

Etapa 3. Síntesis de ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (**n.º 11**). A **n.º 10** (25,0 g, 92,8 mmol, 1 equiv.) en *tert*-butanol (100 ml, 0,93 M) se añadió inmediatamente agua (30,00 ml) seguido de *N*-óxido de *N*-metilmorfolina (25,97 g, 192,1 mmol, 2,07 equiv.) y tetraóxido de osmio (235,93 mg, 928,04 μmol, 0,01 equiv.) Después de 12 horas, la mezcla se concentró al vacío usando agua (20 ml) para retirar azeotrópicamente el *tert*-butanol residual. El residuo se repartió entre acetato de etilo (500 ml) y agua (500 ml) más salmuera (150 ml). La fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo (250 ml). Las fases orgánicas

combinadas se lavaron con una solución acuosa de cloruro sódico (10 % en peso, 200 ml), se lavaron con agua (150 ml) y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color pardo pálido humedecido con agua que se concentró de nuevo en acetato de etilo (100 ml) para retirar cualquier agua restante. El diol en bruto (34,76 g) se usó sin purificación adicional.

- 5 Al diol en bruto (34,76 g, \leq 92,8 mmol, 1 equiv.) en acetonitrilo (347 ml, 0,1 M) y agua (174 ml) se añadió permanganato sódico (2,03 g, 5,73 mmol, 0,05 equiv.). La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió en porciones peryodato sódico (51,46 g, 240,6 mmol, 2,1 equiv.) durante 30 minutos, mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 5 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 4 horas y después se vertió en una solución de pentahidrato de tiosulfato sódico (65,40 g, 263,5 mmol, 2,3 equiv.) en agua (100 ml). La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se repartió entre acetato de etilo (200 ml) y agua (200 ml). La fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo (250 ml), y las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa al 10 % de ácido cítrico. Como el producto deseado era muy soluble en agua, todas las fases acuosas se combinaron, se trataron con Celite (100 g) y se concentraron al vacío para producir una pasta de color blanquecino. Se añadió acetato de etilo (150 ml) y la mezcla se concentró de nuevo para retirar cualquier agua residual; esta operación se repitió una vez más. La pasta se trató con acetato de etilo (150 ml) y se puso al vacío a 50 °C durante 10 minutos y se filtró (repetido dos veces). Los filtrados se combinaron con la fase orgánica previa (del lavado de ácido cítrico), se concentraron, se diluyeron con acetato de etilo (200 ml) y se filtraron a través de Celite para retirar los sólidos. Finalmente, este filtrado se concentró para producir **n.º 11** (22,9 g, 69 % en dos etapas) en forma de una espuma de color amarillento/pardo. CLEM (Protocolo I): *m/z* 310,1 [M+Na⁺], 232,1 [(M - 2-metilprop-1-eno)+H⁺], 188,1 [(M - Boc)+H⁺], tiempo de retención = 3,268 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), señales características: δ 3,61-3,85 (m a, 2H), 3,20-3,45 (m a, 4H), 3,03-3,17 (m a, 1H), 1,59-1,93 (m a, 4H), 1,40 (s a, 9H), 1,02-1,18 (m a, 3H).

Preparación de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-N-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 19) y (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-N-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanoioamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 18)



- 25 **Etapa 1. Síntesis de N-(*tert*-butoxicarbonil)-L-fenilalaninamida (n.º 12).** A una solución de Boc-Phe-OH (30,1 g, 113 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (378 ml, 0,3 M) enfriada a -10 °C se añadieron *N*-metilmorfolina (13,6 ml, 124 mmol, 1,09 equiv.) y cloroformiato de etilo (11,8 ml, 124 mmol, 1,09 equiv.). Después de 20 minutos, se añadió una solución acuosa al 30 % de hidróxido de amonio (45 ml, 350 mmol, 3,1 equiv.). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas antes de concentrarse al vacío. El residuo se diluyó con acetato de etilo y se lavó secuencialmente con una solución acuosa 1 N de bisulfato potásico, agua y salmuera. Después, la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El sólido de color blanco se disolvió (esto requirió calentamiento con agitación) en acetato de etilo (aproximadamente 400 ml); después, la solución se dejó enfriar a temperatura ambiente antes de añadir hexano (~1000 ml). Después de unos pocos minutos, comenzó a precipitar un material de color blanco de la mezcla de reacción. El sólido se recogió por filtración, se lavó con heptano (2 x -150 ml) y se secó al vacío durante 18 horas para dar **n.º 12** (24,50 g, 82 %) en forma de un sólido. CL-EM: *m/z* 263,2 [M-H⁺], 309,2 [M+HCO₂], tiempo de retención = 1,85 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, rotámero principal: δ 7,35 (s a, 1H), 7,22-7,30 (m, 5H), 7,00 (s a, 1H), 6,78 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 4,09 (ddd, *J* = 10, 9, 4,5 Hz, 1H), 2,95 (dd, *J* = 13,8, 4,4 Hz, 1H), 2,72 (dd, *J* = 13,7, 10,1 Hz, 1H), 1,30 (s, 9H).

- 40 **Etapa 2. Síntesis de [(2S)-1-amino-3-fenil-1-tioxopropan-2-il]carbamato de *tert*-butilo (n.º 13).** A una solución de **n.º 12** (14,060 g, 53,192 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (180 ml, 0,296 M), se añadió 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano-2,4-ditona (reactivo de Lawesson) (12,70 g, 31,40 mmol, 0,59 equiv.) y la reacción se calentó a reflujo durante 90 minutos. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se interrumpió mediante la adición de una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico. La mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se disolvió

en acetato de etilo, se concentró al vacío sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetato de etilo en heptano), proporcionando **n.º 13** (11,50 g, 77 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 279,4 [M-H⁺], 225,2 [(M -2-metilprop-1-eno)+H⁺], 181,2 [(M - Boc)+H⁺]; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, rotámero principal: δ 9,60 (s a, 1H), 9,19 (s a, 1H), 7,23-7,32 (m, 5H), 6,82 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 4,44 (ddd, J = 9,4, 9,1, 4,4 Hz, 1H), 3,00 (dd, J = 13,7, 4,5 Hz, 1H), 2,79 (dd, J = 13,6, 9,9 Hz, 1H), 1,29 (s, 9H).

Etapa 3. Síntesis de [(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]carbamato de *terc*-butilo (**n.º 14**). A una mezcla de **n.º 13** (5,65 g, 20,2 mmol, 1 equiv.) en acetona (101 ml, 0,2 M) se añadió bromoacetaldehído dietil acetal (8,76 ml, 58,2 mmol, 2,89 equiv.) y 2 gotas de ácido clorhídrico 4 M en dioxano. La mezcla se desgasificó tres veces con nitrógeno antes de calentarse a reflujo. Después de 2 horas, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El aceite en bruto de color naranja resultante se diluyó con acetato de etilo antes de concentrarse al vacío sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 35 % de acetato de etilo en heptano) y después por cromatografía de fase inversa (Procedimiento A) para dar **n.º 14** (625 mg, 10 %); HPLC (Protocolo E): m/z 304,5 [M+H⁺], 248,9 [(M -2-metilprop-1-eno)+H⁺], tiempo de retención = 7,416 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, rotámero principal: δ 7,75 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,75 (d a, J = 8,6 Hz, 1H), 7,61 (d a, J = 3,1 Hz, 1H), 7,25-7,30 (m, 5H), 4,99 (ddd, J = 10,5, 8,9, 4,5 Hz, 1H), 3,29-3,36 (m, 1H, supuesto; parcialmente oscurecido por señal de agua), 2,98 (dd, J = 13,8, 10,6 Hz, 1H), 1,31 (s, 9H).

Etapa 4. Síntesis de (1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etanamina, sal clorhidrato (**n.º 15**). De acuerdo con procedimiento general C, a partir de **n.º 14** (1,010 g, 3,318 mmol, 1 equiv.), dioxano (10 ml, 0,33 M) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (20 ml, 80 mmol, 20 equiv.) se sintetizó **n.º 15** (775 mg, 97 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,95-9,07 (m a, 3H), 7,86 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,18-7,28 (m, 3H), 7,10-7,15 (m, 2H), 4,98-5,07 (m, 1H), 3,49 (dd, J = 13,3, 4,9 Hz, 1H), 3,18 (dd, J = 13,4, 10,2 Hz, 1H).

Etapa 5. Síntesis de (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**n.º 16**). A una solución de **n.º 11** (280 mg, 0,974 mmol, 1 equiv.) y **n.º 15** (460 mg, 1,44 mmol, 1,48 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida (3 ml, 0,32 M) a 0 °C se añadió cianuro de dietilfosforilo (DEPC) (pureza del 93 %, 212 μ l, 1,30 mmol, 1,34 equiv.), seguido de trietilamina (367 μ l, 2,63 mmol, 2,7 equiv.). Después de 2 horas a 0 °C, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente durante 18 horas. Después, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo:tolueno (2:1, 30 ml) y se lavó sucesivamente con una solución acuosa 1 M de bisulfato sódico (35 ml) y una solución acuosa al 50 % saturada de bicarbonato sódico (4 x 25 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró al vacío y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (de 12 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) para dar **n.º 16** en forma de un aceite de color ámbar claro (374 mg, 81 %). CL-EM: m/z 474,4 [M+H⁺], 374,4 [(M -2-metilprop-1-eno)+H⁺]; tiempo de retención = 3,63 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), señales características: δ 8,66 (d, J = 8,5 Hz, 1H), 7,78 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,64 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,21-7,31 (m, 4H), 7,14-7,20 (m, 1H), 5,40 (ddd, J = 11,4, 8,5, 4,0 Hz, 1H), 3,23 (s a, 3H), 2,18 (dc, J = 9,7, 6,7 Hz, 1H), 1,06 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

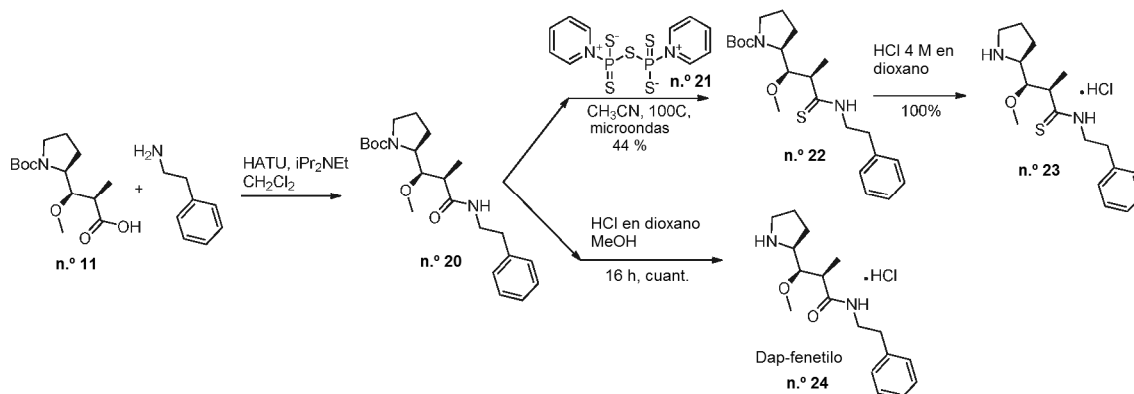
Etapa 6A. Síntesis de (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**n.º 17**). Una mezcla de **n.º 16** (350 mg, 0,739 mmol, 1 equiv.) y 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano-2,4-ditona (reactivo de Lawesson) (324 mg, 0,776 mmol, 1,05 equiv.) en tolueno (6 ml, 0,1 M) se calentó a 100 °C. Después de 10 minutos, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. El material insoluble se retiró por filtración y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 12 % a 80 % de acetato de etilo en heptano) y después por cromatografía de fase inversa (Procedimiento E2) para dar **n.º 17** (120 mg, 33 %); HPLC (Protocolo J): m/z 490,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 10,069 minutos; $[\alpha]^{20}_D$ - 110 (c 0,24, MeOH); RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD), señales características: δ 7,78 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,51 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,32-7,37 (m, 2H), 7,24-7,30 (m, 2H), 7,17-7,23 (m, 1H), 6,52-6,61 (m a, 1H), 3,62 (dd a, J = 15, 4 Hz, 1H), 3,37 (s, 3H), 2,98-3,09 (m a, 1H), 2,53-2,64 (m a, 1H), 1,60-1,78 (m, 2H), 1,49 (s, 9H), 1,27 (d, J = 6,5 Hz, 3H).

Etapa 6B. Síntesis de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanoamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 18**). De acuerdo con procedimiento general B, a partir de **n.º 17** (198 mg, 0,404 mmol, 1 equiv.), diclorometano (6 ml, 0,07 M) y ácido trifluoroacético (2 ml) se sintetizó **n.º 18** (185 mg, 91 %), que se usó sin purificación adicional. CL-EM: m/z 390,1 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,57 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,91 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 9,07-9,20 (m a, 1H), 7,86-8,00 (m a, 1H), 7,83 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 7,27-7,36 (m, 4H), 7,21-7,26 (m, 1H), 6,33 (ddd, J = 11,3, 8,3, 4,4 Hz, 1H), 3,76-3,82 (m, 1H), 3,56 (dd, J = 14,6, 4,3 Hz, 1H), 3,45 (s, 3H), 3,28 (dd, J = 14,6, 11,3 Hz, 1H), 3,02-3,12 (m a, 1H), 2,89-3,00 (m a, 1H), 2,72-2,89 (m, 2H), 1,69-1,83 (m a, 1H), 1,43-1,58 (m, 2H), 1,20-1,33 (m, 1H), 1,22 (d, J = 6,6 Hz, 3H).

Etapa 7. Síntesis de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 19**). De acuerdo con procedimiento general B, a partir de **n.º 16** (607 mg, 1,28 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,13 M) y ácido trifluoroacético (2 ml) se sintetizó **n.º 19** (640 mg, cuantitativo), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,96-9,07 (m a, 1H), 8,89 (d,

$J = 8,8$ Hz, 1H), 7,87-8,00 (m a, 1H), 7,80 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 7,66 (d, $J = 3,3$ Hz, 1H), 7,28-7,34 (m, 4H), 7,20-7,27 (m, 1H), 5,43 (ddd, $J = 11,3, 8,6, 4,2$ Hz, 1H), 3,42-3,50 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,04-3,14 (m a, 1H), 2,99 (dd, $J = 14,2, 11,5$ Hz, 1H), 2,92-3,02 (m, 1H), 2,78-2,88 (m a, 1H), 2,34-2,42 (m, 1H), 1,73-1,84 (m a, 1H), 1,55-1,68 (m, 1H), 1,38-1,53 (m, 2H), 1,15 (d, $J = 6,9$ Hz, 3H).

5 **Preparación de (2R,3R)-3-Metoxi-2-metil-N-(2-feniletíl)-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanotioamida, sal clorhidrato (n.º 23) y (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-N-(2-feniletíl)-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal clorhidrato (n.º 24)**



10 **Etapa 1A.** Síntesis de (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl) amino]propil]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (n.º 20). Al n.º 11 (22 g, 77 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (383 ml, 0,2 M) y *N,N*-dimetilformamida (30 ml) se añadieron diisopropiletilamina (26,9 ml, 153 mmol, 2 equiv.), 2-feniletilamina (11,6 ml, 91,9 mmol, 1,2 equiv.) y HATU (39,0 g, 99,5 mmol, 1,3 equiv.). La reacción se agitó durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (700 ml) y se lavó secuencialmente con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 200 ml) y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó al vacío. El material en bruto se recogió en diclorometano y se filtró. El filtrado se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) para dar n.º 20 (24 g, 80 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CL-EM: m/z 392,2 [M+2H⁺], 291,1 [(M - Boc)+H⁺], tiempo de retención = 0,88 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros: δ 7,80-7,89 (m a, 1H), 7,23-7,29 (m, 2H), 7,15-7,23 (m, 3H), 3,72-3,82 y 3,55-3,62 (2 m a, total 1H), 3,45-3,55 (m a, 1H), 3,31-3,44 (m a, 2H), 3,29 (s, 3H), 3,12-3,25 (m a, 1H), 2,98-3,12 (m a, 1H), 2,71 (t, $J = 7,1$ Hz, 2H), 2,09-2,19 (m, 1H), 1,71-1,83 (m a, 2H), 1,60-1,70 (m a, 1H), 1,49-1,60 (m a, 1H), 1,41 (s, 9H), 1,03 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

15 **Etapa 1B.** Síntesis de pentadiodifosfonato de dipiridinio-1-ilo (n.º 21). Se añadió pentasulfuro fosforoso (4,45 g, 2,19 ml, 20 mmol, 1 equiv.) a piridina (56 ml, 0,36 M) a 80 °C y la mezcla se calentó a reflujo (115 °C) durante 1 hora. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el producto se recogió por filtración para dar n.º 21 en forma de un sólido de color amarillo (4,57 g, 60 %); pf: 165-167 °C (descomposición); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,78-8,84 (m, 4H), 8,22-8,30 (m, 2H), 7,76-7,83 (m, 4H).

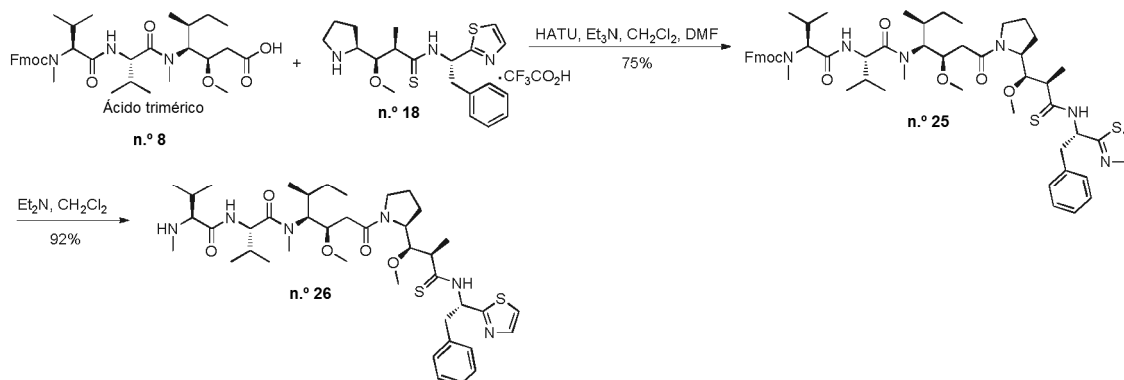
20 **Etapa 2A.** Síntesis de (2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletíl)amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (n.º 22). Una mezcla de n.º 20 (1,200 g, 3,073 mmol, 1 equiv.) y n.º 21 (1,40 g, 3,69 mmol, 1,2 equiv.) en acetonitrilo (15 ml, 0,20 M) se sometió a radiación de microondas a 100 °C durante 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (150 ml) y se lavó secuencialmente con una solución acuosa 0,5 M de ácido clorhídrico (100 ml) y salmuera (2 x 50 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 20 % a 80 % de acetato de etilo en heptano) para dar n.º 22 (670 mg, 54 %) en forma de un sólido de color blanco similar a una cera; pf: 107-109 °C; CL-EM: m/z 407,4 [M+H⁺], 351,3 [(M - 2-metilprop-1-eno)+H⁺], 307,3 [(M - Boc)+H⁺], tiempo de retención = 0,99 minutos; RMN ¹H (400 MHz, CD₃CN), presuntamente una mezcla de rotámeros: δ 8,28 (s a, 1H), 7,19-7,33 (m, 5H), 3,81-4,05 (m a, 2H), 3,60-3,81 (m a, 2H), 3,38-3,51 (m a, 1H), 3,36 (s, 3H), 3,02-3,17 (m a, 1H), 2,89-3,02 (m, 2H), 2,50-2,62 (m a, 1H), 1,71-1,85 (m a, 2H), 1,53-1,66 (m a, 2H), 1,45 (s a, 9H), 1,23 (d, $J = 6,7$ Hz, 3H).

25 **Etapa 3.** Síntesis de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-N-(2-feniletíl)-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanotioamida, sal clorhidrato (n.º 23). De acuerdo con el procedimiento C, a partir de n.º 22 (325 mg, 0,799 mmol, 1 equiv.), dioxano (5 ml, 0,2 M) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (4 ml, 16 mmol, 20 equiv.) se sintetizó n.º 23 (274 mg, cuantitativo) en forma de una espuma de color blanco; CL-EM: 308,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,55 minutos.

30 **Etapa 2B.** Síntesis de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-N-(2-feniletíl)-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal clorhidrato (n.º 24). Al n.º 20 (7,00 g, 17,9 mmol, 1 equiv.) en dioxano (50 ml, 0,36 M) y metanol (2 ml) se añadió una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (20 ml, 80 mmol, 4,4 equiv.). Después de agitar durante 18 horas, la mezcla se concentró para proporcionar n.º 24 (5,86 g, cuantitativo) en forma de una goma, que se usó sin purificación

adicional; CL-EM: 292,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,47 minutos.

Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*-Metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 26)



5

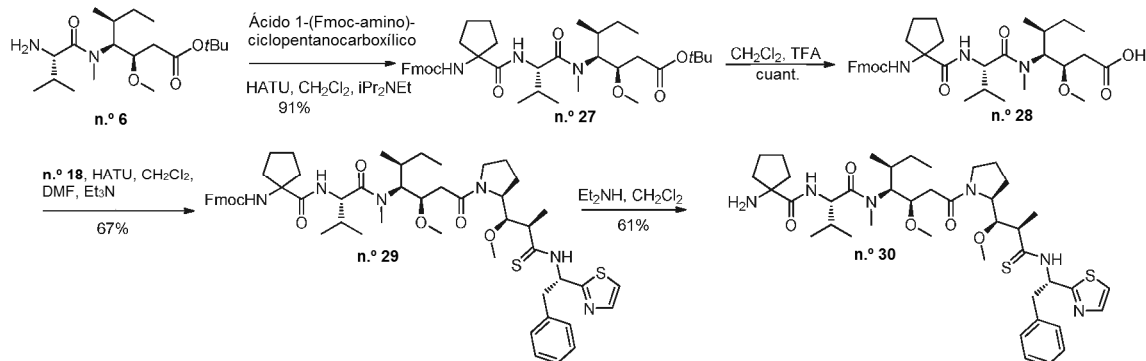
Etapa 1. Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 25)

De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 8 (480 mg, 0,753 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,07 M), *N,N*-dimetilformamida (2 ml), la amina n.º 18 (401 mg, 0,941 mmol, 1,25 equiv.), HATU (372 mg, 0,979 mmol, 1,3 equiv.) y trietilamina (367 µl, 2,64 mmol, 3,5 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetona en heptano) para proporcionar n.º 25 (711 mg, 75 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 1009,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,15 minutos; HPLC (Protocolo B): m/z 505,3 [M+2H⁺]/2, tiempo de retención = 10,138 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, *J* = 8 Hz) y 10,81 (d a, *J* = 8 Hz), total 1H], 7,89 (d a, *J* = 7 Hz, 2H), [7,80 (d, *J* = 3,3 Hz) y 7,83 (d, *J* = 3,2 Hz), total 1H], [7,64 (d, *J* = 3,2 Hz) y 7,69 (d, *J* = 3,2 Hz), total 1H], 7,62 (d a, *J* = 7 Hz, 2H), 7,37-7,44 (m, 2H), 7,28-7,35 (m, 4H), 7,20-7,27 (m, 2H), 7,12-7,18 (m, 1H), 6,27-6,35 y 6,40-6,48 (2 m, total 1H), [1,14 (d, *J* = 6,4 Hz) y 1,17 (d, *J* = 6,3 Hz), total 3H].

Etapa 2. Síntesis de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 26). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 25 (701 mg, 0,694 mmol) en diclorometano (10 ml, 0,07 M) y dietilamina (10 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar un sólido similar al vidrio. Se añadieron éter dietílico y heptano y la mezcla se concentró al vacío, produciendo n.º 26 (501 mg, 92 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo A): m/z 787,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,229 minutos, (pureza > 97 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, *J* = 8 Hz) y 10,81 (d a, *J* = 8 Hz), total 1H], [7,99 (d a, *J* = 9 Hz) y 8,00 (d a, *J* = 9 Hz), total 1H], [7,80 (d, *J* = 3,3 Hz) y 7,83 (d, *J* = 3,3 Hz), total 1H], [7,65 (d, *J* = 3,2 Hz) y 7,69 (d, *J* = 3,3 Hz), total 1H], 7,29-7,34 (m, 2H), 7,19-7,28 (m, 2H), 7,13-7,19 (m, 1H), [6,31 (ddd, *J* = 11, 8, 4,5 Hz) y 6,45 (ddd, *J* = 11,5, 8, 4,5 Hz), total 1H], [4,57 (dd, *J* = 8,9, 8,7 Hz) y 4,63 (dd, *J* = 8,7, 8,7 Hz), total 1H], 3,16, 3,21, 3,24 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,96 y 3,03 (2 s a, total 3H), [1,14 (d, *J* = 6,6 Hz) y 1,17 (d, *J* = 6,4 Hz), total 3H].

30

Preparación de N^2 -[(1-Aminociclopentil)carbonil]- N -[(3 R ,4 S ,5 S)-3-metoxi-1-[(2 S)-2-[(1 R ,2 R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1 S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 30)



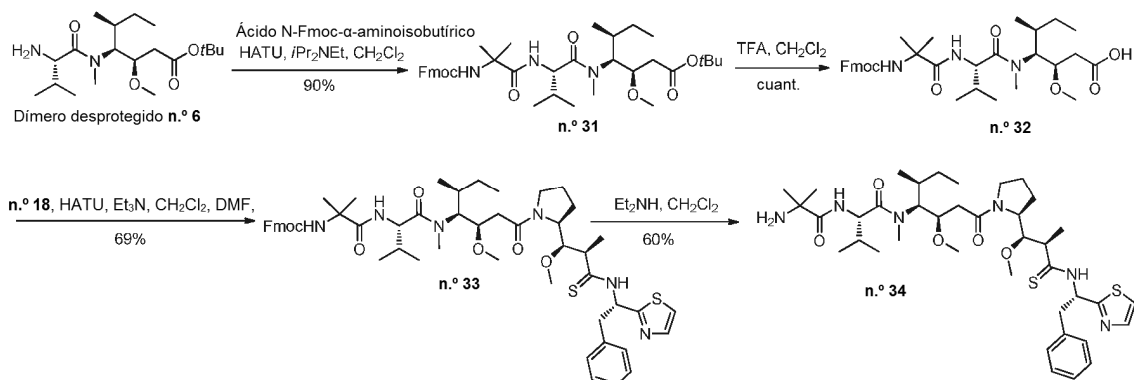
5 **Etapa 1.** Síntesis de (3 R ,4 S ,5 S)-4-[[N -[(1-[(9 H -fluoren-9-ilmetoxi)carbonil] amino] ciclopentil)carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoato de *terc*-butilo (n.º 27). A n.º 6 (287 mg, 0,801 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (4 ml, 0,2 M) se añadieron ácido 1-[[9 H -fluoren-9-ilmetoxi]carbonil]amino]ciclopentanocarboxílico (309 mg, 0,879 mmol, 1,1 equiv.), diisopropiletilamina (281 μ l, 1,60 mmol, 2 equiv.) y HATU (376 mg, 0,960 mmol, 1,2 equiv.). La mezcla se agitó durante 18 horas y se diluyó con acetato de etilo (15 ml). La mezcla de reacción se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 5 ml) y con salmuera (5 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 60 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar n.º 27 (502 mg, 91 %) en forma de una espuma de color blanco. CL-EM: m/z 692,3 [$M+H^+$], 714,3 [$M+Na^+$], 636,3 [(M -2-metilprop-1-eno)+ H^+], tiempo de retención = 1,13 minutos; RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6), señales características: δ 7,89 (d a, J = 7,4 Hz, 2H), 7,67-7,75 (m, 2H), 7,60 (s a, 1H), 7,38-7,44 (m, 2H), 7,30-7,36 (m, 2H), 7,21 (d a, J = 8,8 Hz, 1H), 4,44-4,59 (m, 2H), 4,17-4,27 (m, 3H), 3,68-3,78 (m a, 1H), 3,21 (s, 3H), 2,88 (s a, 3H), 2,09-2,20 (m, 2H), 1,39 (s, 9H).

10 **Etapa 2.** Síntesis de ácido (3 R ,4 S ,5 S)-4-[[N -[(1-[(977-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino] ciclopentil)carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoico (n.º 28). A una solución de n.º 27 (500 mg, 0,723 mmol) en diclorometano (7 ml, 0,1 M) se añadió ácido trifluoroacético (3 ml). La mezcla de reacción se volvió inicialmente de color naranja, después se oscureció a lo largo del tiempo. Después de agitar durante 18 horas, el disolvente se retiró al vacío para dar n.º 28 (460 mg, cuantitativo) en forma de un vidrio de color pardo oscuro, que se usó sin purificación adicional. CL-EM: m/z 636,3 [$M+H^+$].

15 **Etapa 3.** Síntesis de N^2 -[(1-[(9 H -fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino]ciclopentil)carbonil]- N -[(3 R ,4 S ,5 S)-3-metoxi-1-[(2 S)-2-[(1 R ,2 R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1 S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 29). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 28 (50 mg, 0,079 mmol, 1 equiv.) diclorometano (3 ml, 0,03 M), N,N -dimetilformamida (0,5 ml), amina n.º 18 (44 mg, 0,087 mmol, 1,1 equiv.), trietilamina (33,0 μ l, 0,237 mmol, 3 equiv.) y HATU (36 mg, 0,95 mmol, 1,2 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetona en heptano) para dar n.º 29 (59 mg, 67 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 1007,5 [$M+H^+$], tiempo de retención = 1,11 minutos; RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, J = 8 Hz) y 10,80 (d a, J = 8 Hz), total 1H], 7,89 (d a, J = 7 Hz, 2H), [7,80 (d, J = 3,3 Hz) y 7,82 (d, J = 3,1 Hz), total 1H], 7,68-7,75 (m, 2H), [7,64 (d, J = 3,2 Hz) y 7,68 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], 7,38-7,44 (m, 2H), 7,27-7,36 (m, 4H), 7,12-7,25 (m, 4H), [6,30 (ddd, J = 11,8, 4,5 Hz) y 6,39-6,48 (m), total 1H], [4,50 (dd a, J = 8, 8 Hz) y 4,54-4,59 (m), total 1H], 4,17-4,29 (m, 3H), 2,89 y 2,96 (2 s a, total 3H), [1,13 (d, J = 6,5 Hz) y 1,16 (d, J = 6,4 Hz), total 3H].

20 **Etapa 4.** Síntesis de N^2 -[(1-aminociclopentil)carbonil]- N -[(3 R ,4 S ,5 S)-3-metoxi-1-[(2 S)-2-[(1 R ,2 R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1 S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 30). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 29 (54 mg, 0,054 mmol) en diclorometano (6 ml, 0,9 mM) y dietilamina (4 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar el ejemplo n.º 30 (26 mg, 61 %) en forma de un sólido. HPLC (Protocolo A): tiempo de retención = 7,233 minutos, m/z 785,4 [$M+H^+$], (pureza > 72 %). RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, J = 8 Hz) y 10,82 (d a, J = 8 Hz), total 1H], 8,19-8,27 (m, 1H), [7,80 (d, J = 3,2 Hz) y 7,83 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], [7,65 (d, J = 3,3 Hz) y 7,69 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,28-7,33 (m, 2H), 7,20-7,27 (m, 2H), 7,14-7,19 (m, 1H), [6,31 (ddd, J = 11,8, 4,5 Hz) y 6,44 (ddd, J = 11,8, 4 Hz), total 1H], [4,53 (dd, J = 9, 8 Hz) y 4,60 (dd, J = 9, 7,5 Hz), total 1H], 3,24 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,17 y 3,21 (2 s, total 3H), 2,93 y 3,00 (2 s a, total 3H), [1,14 (d, J = 6,5 Hz) y 1,17 (d, J = 6,5 Hz), total 3H].

Preparación de 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 34)



5 **Etapa 1.** Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*tert*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 31). A una solución de n.º 6 (70 % puro, 3,13 g, 6,1 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (40 ml, 0,15 M) se añadieron *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanina (1,99 g, 6,12 mmol, 1 equiv.), diisopropiletilamina (2,67 ml, 15,3 mmol, 2,5 equiv.) y HATU (2,79 g, 7,35 mmol, 1,2 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico y se lavó con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío sobre sílice. Después, el material se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 45 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar n.º 31 (3,65 g, 90 %) en forma de un sólido. CL-EM: *m/z* 665,5 [M+H⁺], 688,5 [M+Na⁺], 610,5 [(M -2-metilprop-1-eno)+H⁺]; HPLC (Protocolo C): tiempo de retención = 9,455 (pureza > 94 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), señales características: δ 7,89 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,67-7,74 (m, 2H), 7,39-7,48 (m, 3H), 7,31-7,36 (m, 2H), 7,29 (d a, *J* = 8,8 Hz, 1H), 4,47-4,60 (m a, 1H), 4,47 (dd, *J* = 8,6, 8,0 Hz, 1H), 4,18-4,28 (m, 3H), 3,69-3,79 (m a, 1H), 3,21 (s, 3H), 2,88 (s a, 3H), 2,15 (dd, *J* = 15,5, 9,3 Hz, 1H), 1,91-2,01 (m, 1H), 1,67-1,81 (m a, 1H), 1,39 (s, 9H), 1,36 (s a, 3H), 1,30 (s, 3H), 0,75 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,66-0,73 (m a, 3H).

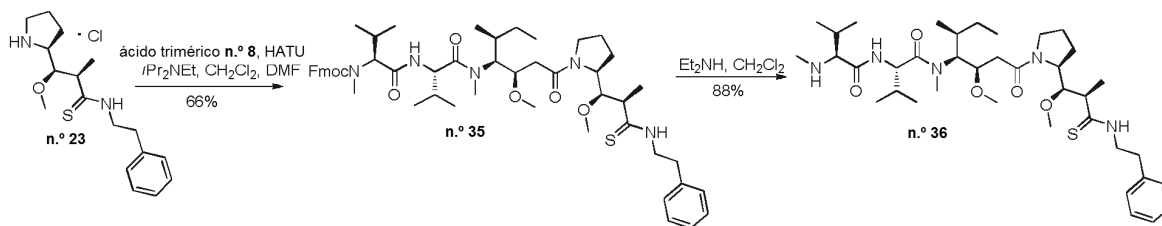
10 **Etapa 2.** Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 32). De acuerdo con procedimiento general B, a partir de n.º 31 (500 mg, 0,751 mmol) en diclorometano (7 ml, 0,1 M) y ácido trifluoroacético (3 ml) se sintetizó n.º 32 en forma de un cristal (458 mg, cuantitativo), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM: *m/z* 611,4 [M+2H⁺], 632,2 [M+Na⁺], tiempo de retención = 0,94 minutos.

15 **Etapa 3.** Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 33). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 32 (53,0 mg, ≤ 0,083 mmol, 1 equiv.), diclorometano (4 ml, 0,02 M), *N,N*-dimetilformamida (1 ml), la amina n.º 18 (43,8 mg, 0,0870 mmol, 1 equiv.), trietilamina (36 µl, 0,26 mmol, 3 equiv.) y HATU (39,5 mg, 0,104 mmol, 1,2 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetona en heptano) para dar n.º 33 (60 mg, 69 % en dos etapas). CL-EM: *m/z* 981,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,090 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, *J* = 8 Hz) y 10,80 (d a, *J* = 8 Hz), total 1H], 7,86-7,91 (m, 2H), [7,80 (d, *J* = 3,3 Hz) y 7,82 (d, *J* = 3,3 Hz), total 1H], 7,68-7,74 (m, 2H), [7,64 (d, *J* = 3,2 Hz) y 7,68 (d, *J* = 3,3 Hz), total 1H], 7,38-7,44 (m, 2H), 7,20-7,36 (m, 6H), 7,12-7,17 (m, 1H), 6,27-6,34 y 6,40-6,47 (2 m, total 1H), 3,22 y 3,24 (2 s, total 3H), 3,14 y 3,18 (2 s, total 3H), 2,90 y 2,97 (2 s a, total 3H), 1,37 (s a, 3H), 1,31 (2 s a, total 3H), [1,13 (d, *J* = 6,6 Hz) y 1,16 (d, *J* = 6,5 Hz), total 3H].

20 **Etapa 4.** Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 34). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 33 (55 mg, 0,055 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (6 ml, 0,009 M) y dietilamina (4 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 5 % de metanol en diclorometano) para dar n.º 34 (25 mg, 60 %) en forma de un sólido. HPLC (Protocolo A): *m/z* 759,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,088 minutos, (pureza > 75 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, *J* = 8 Hz) y 10,81 (d a, *J* = 8 Hz), total 1H], 8,01-8,08 (m, 1H), [7,80 (d, *J* = 3,1 Hz) y 7,83 (d, *J* = 3,3 Hz), total 1H], [7,65 (d, *J* = 3,2 Hz) y 7,69 (d, *J* = 3,2 Hz), total 1H], 7,29-7,33 (m, 2H), 7,20-7,27 (m, 2H), 7,13-7,19 (m, 1H), 6,27-6,35 y 6,40-6,48 (2 m, total 1H), [4,49 (dd, *J* = 9, 8 Hz) y 4,56 (dd, *J* = 9, 8 Hz), total 1H], 3,24 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,17 y 3,21 (2 s, total 3H), 2,92 y 2,99 (2 s a, total 3H), 1,20 y 1,21 (2 s, total 3H), 1,12 y 1,13 (2 s, total 3H), 0,75-0,81 (m, 3H).

45

Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*-metil-L-valil-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletil)amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il}-*N*-metil-L-valinamida (n.º 36)



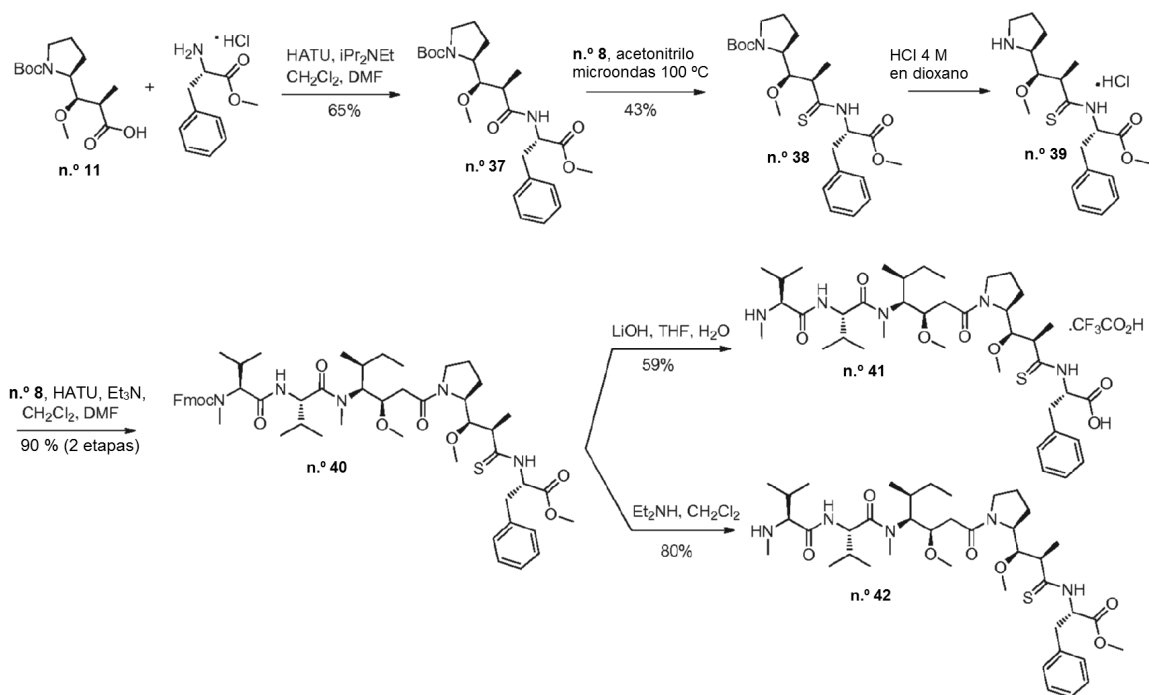
5 **Etapa 1.** Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valil-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletil)amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il}-*N*-metil-L-valinamida (n.º 35). A una mezcla de n.º 23 (337 mg, 0,983 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (8 ml, 0,1 M) y *N,N*-dimetilformamida (1 ml) se añadieron n.º 8 (564 mg, 0,885 mmol, 0,9 equiv.), diisopropiletilamina (383 mg, 2,95 mmol, 3 equiv.) y HATU (472 mg, 1,18 mmol, 1,2 equiv.). Después de 2 horas, la mezcla se diluyó con diclorometano, se lavó secuencialmente con ácido clorhídrico acuoso 0,1 M y con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento G) para dar n.º 35 (600 mg, 66 %); CL-EM: m/z 926,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,16 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [9,94 (t a, J = 5 Hz) y 10,16-10,23 (m a), total 1H], 7,90 (d, J = 7,2 Hz, 2H), [7,71 (d a, J = 7 Hz) y 8,06 (d a, J = 8 Hz), total 1H], 7,60-7,65 (m, 2H), 7,41 (dd a, J = 7, 7 Hz, 2H), 7,15-7,36 (m, 7H), 3,29 (s, 3H), 1,16-1,22 (m, 3H).

15 **Etapa 2.** Síntesis de *N*-metil-L-valil-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletil)amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il}-*N*-metil-L-valinamida (n.º 36). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 35 (465 mg, 0,502 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (5 ml, 0,1 M) y dietilamina (5 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar n.º 36 (310 mg, 88 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 704,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,74 minutos; HRMS: m/z calculado para C₃₈H₆₆N₅O₅S: 704,4779, encontrado: 704,477 [M+H⁺]; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,23-7,30 (m, 4H), 7,15-7,22 (m, 1H), [4,68 (d, J = 8,6 Hz) y 4,74 (d, J = 8,0 Hz), total 1H], 3,39 y 3,40 (2 s, total 3H), 3,12 y 3,22 (2 s a, total 3H), [2,82 (d, J = 6,0 Hz) y 2,84 (d, J = 6,0 Hz), total 1H], 2,29 y 2,30 (2 s, total 3H), [1,27 (d, J = 6,8 Hz) y 1,29 (d, J = 6,6 Hz), total 3H], [0,84 (t, J = 7,4 Hz) y 0,87 (t, J = 7,4 Hz), total 3H].

25

Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 41) y Ejemplo de Referencia *N*-metil-L-valil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 42)

5



Etapa 1. Síntesis de *N*-[(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo (**n.º 37**). A una mezcla de **n.º 11** (2,7 g, 9,4 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (30 ml, 0,3 M) y *N,N*-dimetilformamida (3 ml) se añadieron diisopropiletilamina (3,30 ml, 18,8 mmol, 2 equiv.), clorhidrato de éster metílico de L-fenilalanina (2,03 g, 9,40 mmol, 1,2 equiv.) y HATU (4,79 g, 12,2 mmol, 1,3 equiv.). La reacción se agitó durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó secuencialmente con ácido clorhídrico 1 M (2 x 50 ml) y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó al vacío. El material en bruto se recogió en diclorometano y se filtró. El filtrado se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) para dar **n.º 37** (2,76 g, 65 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CL-EM: *m/z* 449,3 [M+H⁺], 349,2 [(M - Boc)+H⁺]; tiempo de retención = 0,88 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 8,28 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,14-7,29 (m, 5H), 4,50 (ddd, *J* = 10,9, 8,1, 4,4 Hz, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,23 (s, 3H), 2,15-2,24 (m, 1H), 1,56-1,76 (m, 2H), 1,31-1,55 (m, 11H), 1,02 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H).

10

15

Etapa 2. Síntesis de *N*-[(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanotioil]-L-fenilalaninato de metilo (**n.º 38**). Una mezcla de **n.º 37** (1,52 g, 3,39 mmol, 1 equiv.) y **n.º 21** (1,68 g, 4,41 mmol, 1,3 equiv.) en acetonitrilo (12 ml, 0,28 M) se sometió a radiación de microondas a 100 °C durante 1 hora. La mezcla se repartió entre agua y acetato de etilo. La fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa al 10 % de ácido cítrico y con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El material se disolvió en una pequeña cantidad de acetato de etilo y se concentró sobre sílice al vacío. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetato de etilo en heptano) proporcionó **n.º 38** (680 mg, 43 %); CL-EM: *m/z* 465,2 [M+H⁺], 487,3 [M+Na⁺], 365,2 [(M - Boc)+H⁺], tiempo de retención = 0,97 minutos; HPLC (Protocolo B): 465,2 [M+H⁺], 487,2 [M+Na⁺], 365,2 [(M - Boc)+H⁺], tiempo de retención = 7,444 minutos (pureza > 98 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 10,23 (d a, *J* = 7,5 Hz, 1H), 7,17-7,28 (m, 5H), 5,24 (ddd, *J* = 11,7, 5, 4,5 Hz, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 3,21 (dd, *J* = 14,3, 4,4 Hz, 1H), 3,07 (dd, *J* = 14,2, 11,2 Hz, 1H), 2,65-2,74 (m, 1H), 1,54-1,71 (m, 2H), 1,37 (s, 9H), 1,17 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

20

25

30

Etapa 3. Síntesis de *N*-[(2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanotioil]-L-fenilalaninato de metilo, sal clorhidrato (**n.º 39**). De acuerdo con procedimiento general C, a 0 °C a partir de **n.º 38** (660 mg, 1,42 mmol, 1 equiv.), dioxano (10 ml, 0,14 M) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (20 ml, 80 mmol, 60 equiv.) se sintetizó **n.º 39** (590 mg) en forma de un sólido de color blanquecino, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM: *m/z* 365,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,58 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,67 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 9,42-9,54 (m a, 1H), 8,21-8,33 (m a, 1H), 7,20-7,35 (m, 5H), 5,25 (ddd, *J* = 11,1, 7,6, 4,4 Hz, 1H), 3,76 (dd, *J* = 8,9, 3,0 Hz, 1H), 3,68 (s, 3H), 3,39 (s, 3H), 3,24 (dd, *J* = 14,2, 4,5 Hz, 1H), 3,13 (dd, *J* = 14,3, 11,0 Hz, 1H),

35

2,93-3,09 (m, 3H), 2,85-2,93 (m, 1H), 1,72-1,84 (m, 1H), 1,36-1,60 (m, 3H), 1,22 (d, $J = 6,6$ Hz, 3H).

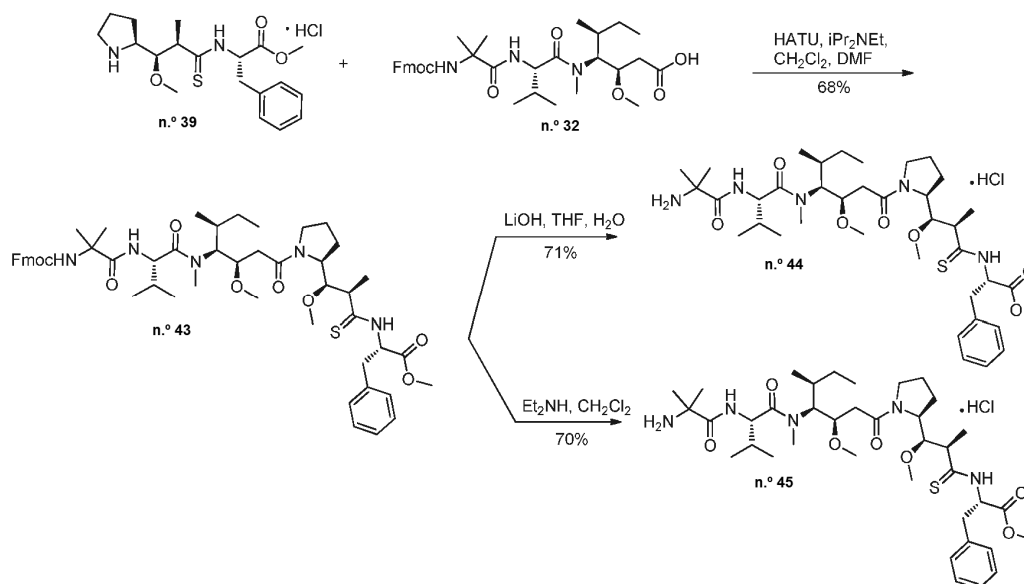
5 *Etapa 4.* Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-*L*-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 40**). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de **n.º 8** (247 mg, 0,387 mmol, 1 equiv.), **n.º 39** (186 mg, $\leq 0,450$ mmol, 1,2 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,04 M), *N,N*-dimetilformamida (2 ml), HATU (176 mg, 0,464 mmol, 1,2 equiv.) y trietilamina (189 μ l, 1,35 mmol, 3,5 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 25 % de acetona en heptano) para dar **n.º 40** (410 mg, 90 % en 2 etapas) en forma de un sólido de color blanquecino. CL-EM: m/z 984,7 [M+H⁺], 1006,7 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,15 minutos; HPLC (Protocolo C): tiempo de retención = 9,683 minutos (pureza > 99 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,19 (d a, $J = 7$ Hz) y 10,49 (d a, $J = 8$ Hz), total 1H], 7,90 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,60-7,65 (m, 2H), 7,38-7,45 (m, 2H), 7,29-7,35 (m, 2H), 7,14-7,28 (m, 5H), [5,20 (ddd, $J = 11,7$, 4 Hz) y 5,35-5,43 (m), total 1H], 3,65 y 3,69 (2 s, total 3H), [1,15 (d, $J = 6,5$ Hz) y 1,18 (d, $J = 6,4$ Hz), total 3H].

15 *Etapa 5A.* Síntesis de *N*-metil-*L*-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 41**). A una solución de **n.º 40** (401 mg, 0,407 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (10 ml, 0,03 M) se añadió una solución de hidróxido de litio (24,4 mg, 1,02 mmol, 2,5 equiv.) en agua (5 ml). Después de 4 horas, la reacción se concentró al vacío y después se destiló azeotrópicamente tres veces con heptano. El material en bruto se disolvió en dimetilsulfóxido (7 ml) y se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C, 7 inyecciones de 1 ml). Las fracciones apropiadas se concentraron (Genevac) antes de diluirse con una pequeña cantidad de metanol en diclorometano. La mezcla se concentró al vacío para dar un sólido parecido al cristal. Después, se añadió éter dietílico, seguido de heptano, y la mezcla se concentró al vacío para proporcionar **n.º 41** (180 mg, 59 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 748,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,68 minutos; HPLC (Protocolo A): 748,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 6,922 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 12,9 y 13,1 (2 x s a, total 1H), [10,12 (d a, $J = 8$ Hz) y 10,45 (d a, $J = 8$ Hz), total 1H], 8,75-8,90 (m, 2H), 8,62-8,73 (m a, 1H), 7,13-7,29 (m, 5H), [5,20 (ddd, $J = 11,7,5$, 4 Hz) y 5,40 (ddd, $J = 11,5$, 8, 4 Hz), total 1H], 4,55-4,73 (m, 2H), 3,23 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,16 y 3,18 (2 s, total 3H), 2,97 y 3,01 (2 s a, total 3H), 1,13-1,20 (m, 3H), 0,73-0,81 (m, 3H).

30 *Etapa 5B.* Síntesis de *N*-metil-*L*-valil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 42**). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de **n.º 40** (561 mg, 0,570 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,057 M) y dietilamina (10 ml) se sintetizó **n.º 42** (348 mg, 80 %) en forma de un sólido de color blanco después de cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano). CL-EM: m/z 762,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,74 minutos; HPLC (Protocolo A): 762,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,315 minutos (pureza > 95 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,20 (d a, $J = 7,5$ Hz) y 10,50 (d a, $J = 8$ Hz), total 1H], 7,95-8,03 (m, 1H), 7,15-7,29 (m, 5H), [5,20 (ddd, $J = 11,7,5$, 5 Hz) y 5,39 (ddd, $J = 11,7$, 5, 4 Hz), total 1H], [4,57 (dd, $J = 8,8$, 8,7 Hz) y 4,61 (dd, $J = 8,7$, 8,6 Hz), total 1H], 3,65 y 3,69 (2 s, total 3H), 3,24 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,16 y 3,17 (2 s, total 3H), 2,96 y 2,99 (2 s a, total 3H), 2,69-2,79 (m, 1H), 2,62-2,68 (m, 1H), 2,14 y 2,15 (2 s a, total 3H), [1,15 (d, $J = 6,6$ Hz) y 1,18 (d, $J = 6,5$ Hz), total 3H], [0,75 (t, $J = 7,4$ Hz) y 0,76 (t, $J = 7,3$ Hz), total 3H].

Preparación de 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal clorhidrato (n.º 44) y 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal clorhidrato (n.º 45)

5



Etapa 1. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il] amino)-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 43). A una solución de n.º 32 (321 mg, 0,881 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (5 ml, 0,1 M) y *N,N*-dimetilformamida (1 ml) se añadieron n.º 39 (484 mg, <0,769 mmol, 0,9 equiv.), HATU (353 mg, 0,881 mmol, 1 equiv.) y diisopropiletilamina (463 μ l, 2,64 mmol, 3 equiv.). Después de agitar durante 18 horas, la mezcla se diluyó con diclorometano, se lavó con agua y con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró sobre sílice al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetona en heptano) para dar n.º 43 (574 mg, 68 % en dos etapas) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 956,6 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 4,49 minutos; RMN 1H (400 MHz, CD_3OD), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,80 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,64-7,72 (m, 2H), 7,16-7,35 (m, 7H), [5,43 (dd, $J = 11,4, 5$ Hz) y 5,58 (dd, $J = 11,5, 4$ Hz), total 1H], 3,72 y 3,75 (2 s, total 3H), 3,34 y 3,35 (2 s, total 3H), 3,26 y 3,29 (2 s, total 3H), 3,05 y 3,11 (2 s a, total 3H), 1,39 y 1,40 (2 s, total 3H), [1,24 (d, $J = 6,7$ Hz) y 1,29 (d, $J = 6,4$ Hz), total 3H].

10

15

20

25

30

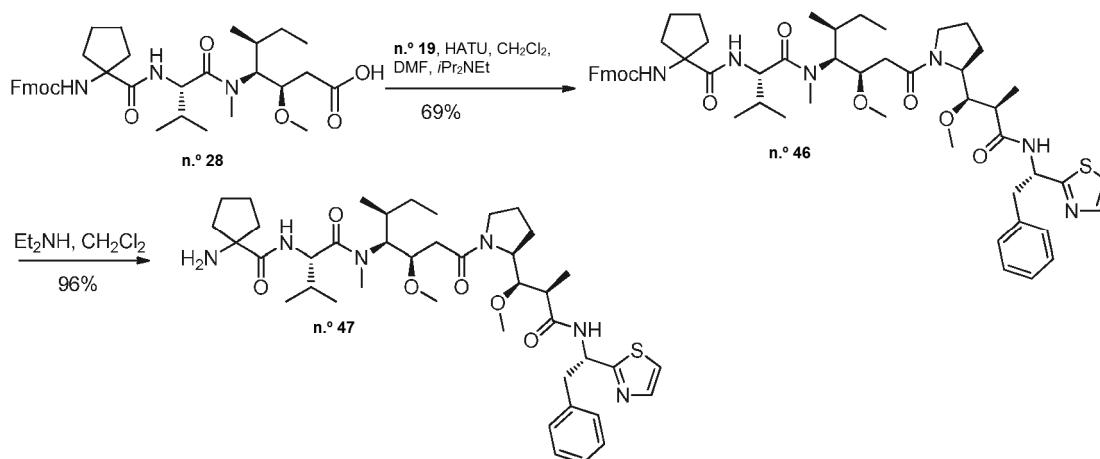
Etapa 2A. Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal clorhidrato (n.º 44). A una solución de n.º 43 (100 mg, 0,105 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (5 ml, 0,02 M) se añadió una solución de hidróxido de litio (10 mg, 0,417 mmol, 3 equiv.) en agua (3 ml). Después de 3 horas, la reacción se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para dar una sal de ácido trifluoroacético, que se disolvió en metanol, se trató con una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano y se concentró al vacío para dar n.º 44 (56 mg, 71 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 720,6 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 0,67 minutos; HPLC (Protocolo D): tiempo de retención = 8,851 minutos; RMN 1H (400 MHz, CD_3OD), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,17-7,31 (m, 5H), 3,34 y 3,35 (2 s, total 3H), 3,10 y 3,16 (2 s a, total 3H), 1,62 y 1,64 (2 s, total 3H), 1,53 y 1,55 (2 s, total 3H), [1,26 (d, $J = 6,5$ Hz) y 1,30 (d, $J = 6,5$ Hz), total 3H], 0,84-0,91 (m, 3H).

35

40

Etapa 2B. Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-[(2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal clorhidrato (n.º 45). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 43 (176 mg, 0,184 mmol, 1 equiv.), diclorometano (4 ml, 0,05 M) y dietilamina (4 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C). La sal de ácido trifluoroacético resultante se disolvió en metanol, se trató con una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano y se concentró al vacío para dar n.º 45 (100 mg, 70 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 734,6 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 0,72 minutos; RMN 1H (400 MHz, CD_3OD), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,18-7,31 (m, 5H), 5,41-5,47 y 5,55-5,62 (2 m, total 1H), 3,73 y 3,76 (2 s, total 3H), 3,35 y 3,36 (2 s, total 3H), 3,10 y 3,15 (2 s a, total 3H), 1,62 y 1,64 (2 s, total 3H), 1,53 y 1,55 (2 s, total 3H), [1,25 (d, $J = 6,6$ Hz) y 1,29 (d, $J = 6,5$ Hz), total 3H], 0,84-0,91 (m, 3H).

Preparación de N^2 -[(1-Aminociclopentil)carbonil]- N -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 47)

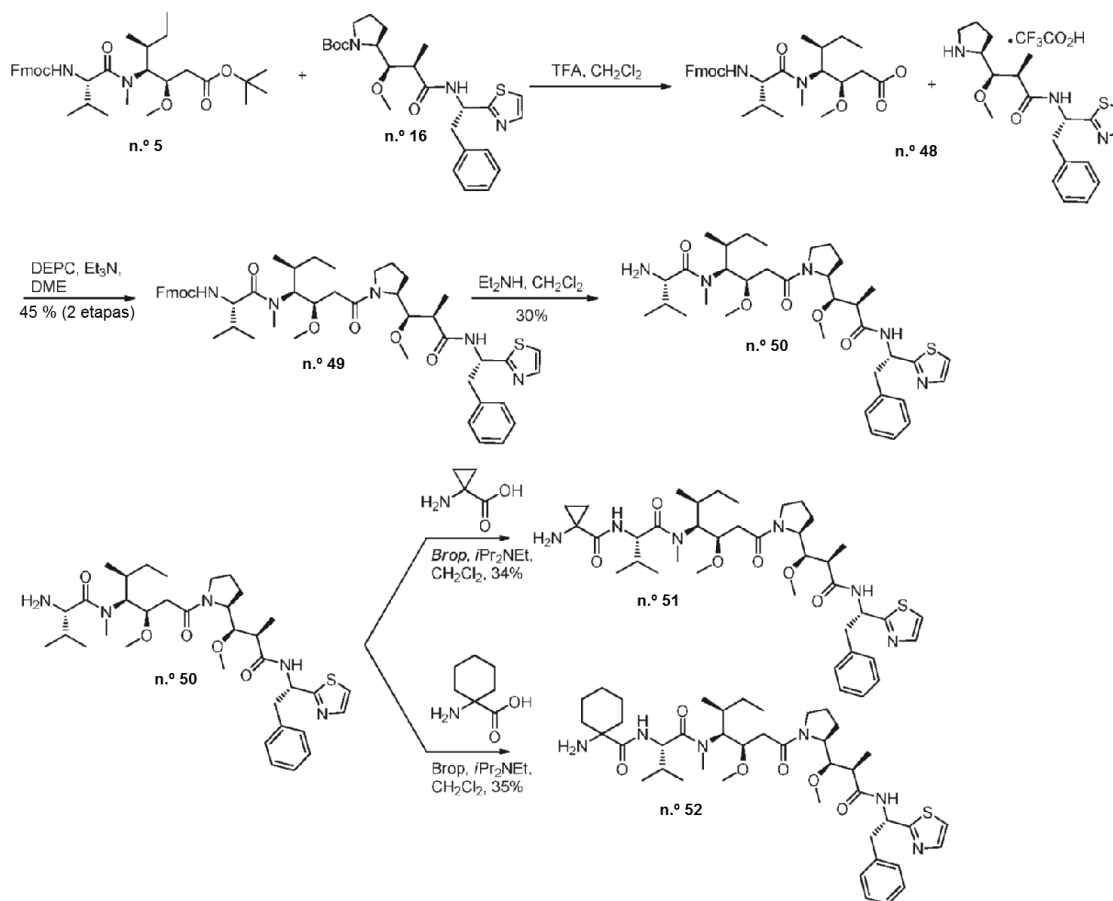


5 **Etapa 1.** Síntesis de N^2 -[(1-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino)ciclopentil]-carbonil]- N -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 46). A una solución de n.º 19 (353 mg, 0,944 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (10 ml, 0,094 M) se añadieron n.º 28 (600 mg, 0,944 mmol, 0,9 equiv.), diisopropiletamina (498 μ l, 2,83 mmol, 3 equiv.) y HATU (444 mg, 1,13 mmol, 1,2 equiv.). Después de agitar durante dos días, la mezcla se concentró al vacío y el residuo se diluyó con acetato de etilo (60 ml), se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico y con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con diclorometano y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 40 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) para dar n.º 46 (644 mg, 69 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 991,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,07 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,89 (d a, J = 7,4 Hz, 2H), [7,77 (d, J = 3,3 Hz) y 7,79 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,66-7,76 (m, 2H), [7,62 (d, J = 3,3 Hz) y 7,65 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,37-7,44 (m, 2H), 7,11-7,36 (m, 7H), [5,38 (ddd, J = 11,8, 4 Hz) y 5,48-5,57 (m), total 1H], 3,13, 3,17, 3,18 y 3,24 (4 s, total 6H), 2,90 y 3,00 (2 s a, total 3H), [1,05 (d, J = 6,6 Hz) y 1,09 (d, J = 6,8 Hz), total 3H].

20 **Etapa 2.** Síntesis de N^2 -[(1-aminociclopentil)carbonil]- N -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 47). A una mezcla de n.º 46 (500 mg, 0,504 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (8 ml, 0,06 M) se añadió dietilamina (4 ml). Después de agitar durante 18 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar n.º 47 (374 mg, 96 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 769,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,70 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,64 (d a, J = 8,4 Hz) y 8,87 (d a, J = 8,6 Hz), total 1H], [8,22 (d a, J = 9,4 Hz) y 8,26 (d a, J = 9,4 Hz), total 1H], [7,77 (d, J = 3,3 Hz) y 7,80 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], [7,63 (d, J = 3,1 Hz) y 7,66 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,13-7,31 (m, 5H), [5,39 (ddd, J = 11,1, 8,5, 4,2 Hz) y 5,54 (ddd, J = 11,7, 8,8, 4,1 Hz), total 1H], [4,53 (dd, J = 9,2, 7,6 Hz) y 4,64 (dd, J = 9,2, 6,6 Hz), total 1H], 3,16, 3,20, 3,21 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,93 y 3,03 (2 s a, total 3H), [1,05 (d, J = 6,8 Hz) y 1,10 (d, J = 6,6 Hz), total 3H], 0,73-0,80 (m, 3H).

Preparación de N^2 -[(1-Aminociclopropil)carbonil]- N -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 51) y 1-amino- N -[(2S)-1-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]ciclohexanocarboxamida (n.º 52)

5



Etapa 1. Síntesis de (2R,3R)-3-metoxi-2-metil- N -[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal de ácido trifluoroacético y ácido (3R,4S,5S)-4-[[N -[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoico (n.º 48). A una solución de n.º 16 (1,0 g, 2,11 mmol, 1 equiv.) y n.º 5 (1,22 g, 2,11 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (20 ml, 0,1 M) a 0 °C se añadió ácido trifluoroacético (6 ml). Después de 3 horas, la mezcla se concentró al vacío para dar la mezcla n.º 48 (1,8 g), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional; CL-EM (Protocolo K): m/z 374,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,093 minutos, 525,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 4,875 minutos.

10

Etapa 2. Síntesis de N^2 -[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]- N -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 49). A una solución de n.º 48 (1,8 g, \leq 2,1 mmol, 1 equiv.) y cianofosfonato de dietilo (DEPC) (0,51 g, 3,2 mmol, 1,5 equiv.) en 1,2-dimetoxietano (30 ml, 0,07 M) a 0 °C se añadió trietilamina (1,47 ml, 10,6 mmol, 5 equiv.). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (de 10 % a 50 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para dar n.º 49 (0,8 g, 45 %). F_r 0,6 (metanol al 10 % en diclorometano); CL-EM (Protocolo K): m/z 881,3 [M+H⁺], 903,3 [M+Na⁺], tiempo de retención = 4,837 minutos.

15

20

Etapa 3. Síntesis de N -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida (n.º 50). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 49 (0,70 g, 0,79 mmol, 1 equiv.), diclorometano (15 ml, 0,05 M) y dietilamina (10 ml) se sintetizó n.º 50 (160 mg, 30 %) después de la purificación por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 5 % de metanol en diclorometano). F_r 0,4 (metanol al 10 % en diclorometano); CL-EM (Protocolo K): m/z 658,3 [M+H⁺], 680,3 [M+Na⁺], tiempo de retención = 2,760 minutos.

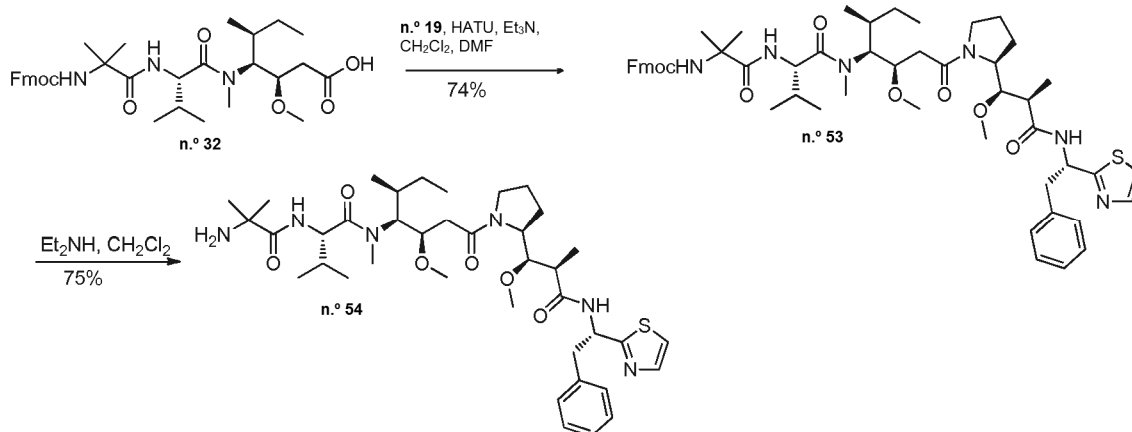
25

Etapa 4A. Síntesis de N^2 -[(1-aminociclopropil)carbonil]- N -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- N -metil-L-valinamida

(n.º 51). A una solución de n.º 50 (100 mg, 0,15 mmol, 1 equiv.), hexafluorofosfato de bromotris(dimetilamino)fosfonio (Brop, 70 mg, 0,18 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (0,08 ml, 0,45 mmol, 3 equiv.) en diclorometano (15 ml, 0,01 M) a 0 °C se añadió ácido 1-aminociclopropanocarboxílico (18 mg, 0,18 mmol, 1,2 equiv.). Después de 2 horas, la mezcla se inactivó con agua y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 5 % de metanol en diclorometano) para dar n.º 51 (45 mg, 34 %). Fr 0,5 (metanol al 10 % en diclorometano). CL-EM (Protocolo I): m/z 741,44 [M+H⁺]; RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,64 (d a, J = 8 Hz) y 8,88 (d a, J = 8 Hz), total 1H], [8,16 (d a, J = 9 Hz) y 8,22 (d a, J = 10 Hz), total 1H], [7,77 (d, J = 3,5 Hz) y 7,79 (d, J = 3,5 Hz), total 1H], [7,63 (d, J = 3,5 Hz) y 7,65 (d, J = 3 Hz), total 1H], 7,10-7,32 (m, 5H), 5,33-5,60 (m, 1H), 3,16, 3,20, 3,21 y 3,26 (4 s, total 6H), 2,93 y 3,02 (2 s a, total 3H), [1,05 (d, J = 6,3 Hz) y 1,10 (d, J = 6,3 Hz), total 3H].

Etapa 4B. Síntesis de 1-amino-*N*-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metilamino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]ciclohexanocarboxamida (n.º 52). A una solución de n.º 50 (120 mg, 0,18 mmol, 1 equiv.), Brop (84 mg, 0,21 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (0,1 ml, 0,54 mmol, 3 equiv.) en diclorometano (15 ml, 0,009 M) a 0 °C se añadió ácido 1-aminociclohexanocarboxílico (31 mg, 0,21 mmol, 1,2 equiv.). Después de 2 horas, la mezcla se inactivó con agua y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 5 % de metanol en diclorometano) para dar n.º 52 (50 mg, 35 %). Fr 0,6 (metanol al 10 % en diclorometano). CL-EM (Protocolo K): m/z 783,79 [M+H⁺]; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,64 (d a, J = 8 Hz) y 8,87 (d a, J = 9 Hz), total 1H], 8,18-8,28 (m, 1H), [7,77 (d, J = 3,5 Hz) y 7,80 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], [7,63 (d, J = 3,3 Hz) y 7,66 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,12-7,31 (m, 5H), 5,35-5,43 y 5,49-5,57 (2 m, total 1H), [4,51 (dd, J = 9, 8 Hz) y 4,61 (dd, J = 9, 7 Hz), total 1H], 3,16, 3,19, 3,21 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,93 y 3,02 (2 s a, total 3H), [1,05 (d, J = 6,8 Hz) y 1,10 (d, J = 6,8 Hz), total 3H].

Preparación de 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 54)

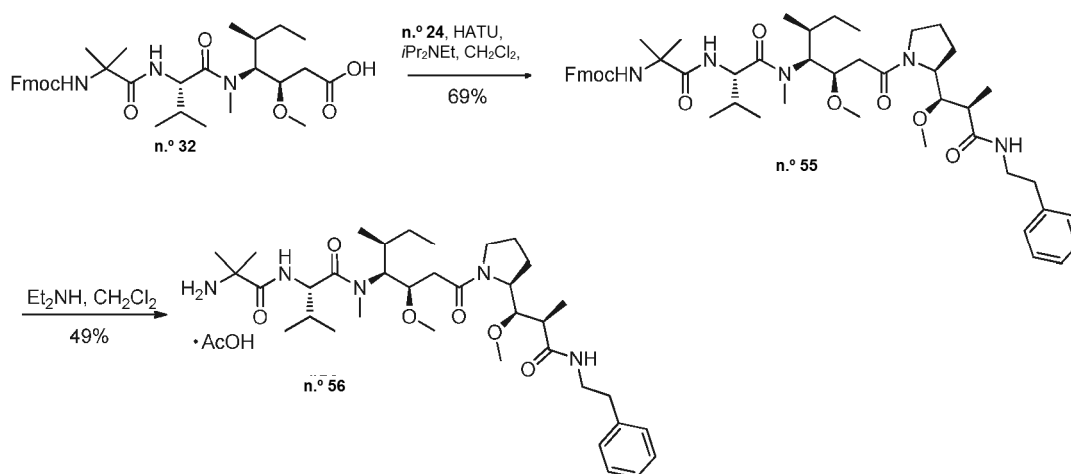


Etapa 1. Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 53). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 32 (2,05 g, 2,83 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (20 ml, 0,1 M) y *N,N*-dimetilformamida (3 ml), la amina n.º 19 (2,5 g, 3,4 mmol, 1,2 equiv.), HATU (1,29 g, 3,38 mmol, 1,2 equiv.) y trietilamina (1,57 ml, 11,3 mmol, 4 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 55 % de acetona en heptano), produciendo n.º 53 (2,42 g, 74 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 965,7 [M+H⁺], 987,6 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,04 minutos; HPLC (Protocolo A): m/z 965,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 11,344 minutos (pureza > 97 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,86-7,91 (m, 2H), [7,77 (d, J = 3,3 Hz) y 7,79 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], 7,67-7,74 (m, 2H), [7,63 (d, J = 3,2 Hz) y 7,65 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], 7,38-7,44 (m, 2H), 7,30-7,36 (m, 2H), 7,11-7,30 (m, 5H), [5,39 (ddd, J = 11,4, 8,4, 4,1 Hz) y 5,52 (ddd, J = 11,7, 8,8, 4,2 Hz), total 1H], [4,49 (dd, J = 8,6, 7,6 Hz) y 4,59 (dd, J = 8,6, 6,8 Hz), total 1H], 3,13, 3,17, 3,18 y 3,24 (4 s, total 6H), 2,90 y 3,00 (2 s a, total 3H), 1,31 y 1,36 (2 s a, total 6H), [1,05 (d, J = 6,7 Hz) y 1,09 (d, J = 6,7 Hz), total 3H].

Etapa 2. Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 54). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 53 (701 mg, 0,726 mmol) en diclorometano (10 ml, 0,07 M) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano). El residuo se diluyó con éter dietílico y heptano y se concentró al vacío para proporcionar

n.º 54 (406 mg, 75 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 743,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,70 minutos; HPLC (Protocolo A): m/z 743,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 6,903 minutos, (pureza > 97 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,64 (d a, J = 8,5 Hz) y 8,86 (d a, J = 8,7 Hz), total 1H], [8,04 (d a, J = 9,3 Hz) y 8,08 (d a, J = 9,3 Hz), total 1H], [7,77 (d, J = 3,3 Hz) y 7,80 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], [7,63 (d, J = 3,3 Hz) y 7,66 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], 7,13-7,31 (m, 5H), [5,39 (ddd, J = 11, 8,5, 4 Hz) y 5,53 (ddd, J = 12, 9, 4 Hz), total 1H], [4,49 (dd, J = 9, 8 Hz) y 4,60 (dd, J = 9, 7 Hz), total 1H], 3,16, 3,20, 3,21 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,93 y 3,02 (2 s a, total 3H), 1,21 (s, 3H), 1,13 y 1,13 (2 s, total 3H), [1,05 (d, J = 6,7 Hz) y 1,10 (d, J = 6,7 Hz), total 3H], 0,73-0,80 (m, 3H).

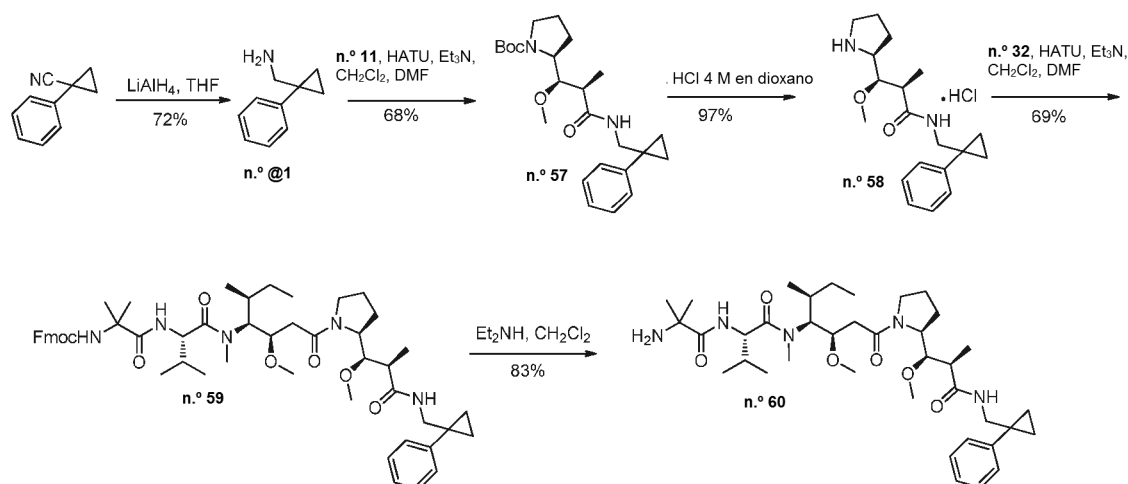
Preparación de 2-Metilalanil-N-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletil)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-N-metil-L-valinamida, sal de ácido acético (n.º 56)



Etapa 1. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletil)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 55**). A una solución de **n.º 24** (104 mg, 0,256 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (10 ml, 0,094 M) se añadieron **n.º 32** (156 mg, 0,256 mmol, 0,9 equiv.), diisopropiletilamina (135 μ l, 0,768 mmol, 3 equiv.) y HATU (120 mg, 0,307 mmol, 1,2 equiv.). Después de agitar durante 18 horas, la mezcla se concentró al vacío y el residuo se diluyó con acetato de etilo (10 ml), se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 5 ml) y con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con diclorometano y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) para dar **n.º 55** (44 mg, 19 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 884,5 [M+2H⁺], tiempo de retención = 1,04 minutos.

Etapa 2. Síntesis de 2-metilalanil-*N*-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletil)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il)-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido acético (**n.º 56**). A una mezcla de **n.º 55** (44 mg, 0,050 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (1 ml, 0,05 M) se añadió dietilamina (0,5 ml). Después de agitar durante 18 horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento B) para dar **n.º 56** (16,2 mg, 49 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 660,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,23 minutos; HPLC (Protocolo A): m/z 660,5 [M+H⁺], 682,4 [M+Na⁺], tiempo de retención = 6,865 minutos.

Preparación de 2-Metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valmida (n.º 60)



5 **Etapa 1.** Síntesis de 1-(1-fenilciclopropil)metanamina n.º@1. A una solución de 1-fenilciclopropanocarbonitrilo (50 g, 0,34 mol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (500 ml, 0,7 M) a 0 °C se añadió hidruro de litio y aluminio (23 g, 0,35 mol, 1,03 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante una hora y después a reflujo durante una hora. Después, la mezcla de reacción se enfrió y se inactivó con agua (23 ml) y una solución acuosa al 15 % hidróxido sódico acuoso (69 ml). La mezcla se filtró y se concentró al vacío para proporcionar n.º@1 (36 g, 72 %). CL-EM: *m/z* 148,1 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,86 minutos; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,2-7,4 (m, 5H), 2,78 (s, 2H), 1,19 (s a, 2H), 0,72-0,84 (m, 4H).

15 **Etapa 2.** Síntesis de (2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclo propil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (n.º 57). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 11 (2,15 g, 7,48 mmol, 1,1 equiv.) en diclorometano (20 ml, 0,3 M) y *N,N*-dimetilformamida (4 ml), 1-(1-fenilciclopropil)metanamina n.º@1 (1,001 g, 6,799 mmol, 1 equiv.), HATU (3,10 g, 8,16 mmol, 1,2 equiv.) y trietilamina (2,84 ml, 20,4 mmol, 3 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetato de etilo en heptano), produciendo n.º 57 (1,93 g, 68 %) en forma de un sólido. HPLC (Protocolo A a 45 °C): *m/z* 417,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 10,575 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), se presume que es una mezcla de rotámeros: δ 7,75-7,81 (m, 1H), 7,20-7,27 (m, 4H), 7,12-7,19 (m, 1H), 3,33-3,62 y 3,71-3,80 (multipletes a, total 4H), 3,28 (s, 3H), 2,97-3,17 (m a, 2H), 2,14-2,24 (m, 1H), 1,67-1,80 (m a, 2H), 1,45-1,65 (m, 2H), 1,41 (s, 9H), 1,00 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 0,67-0,93 (m, 4H).

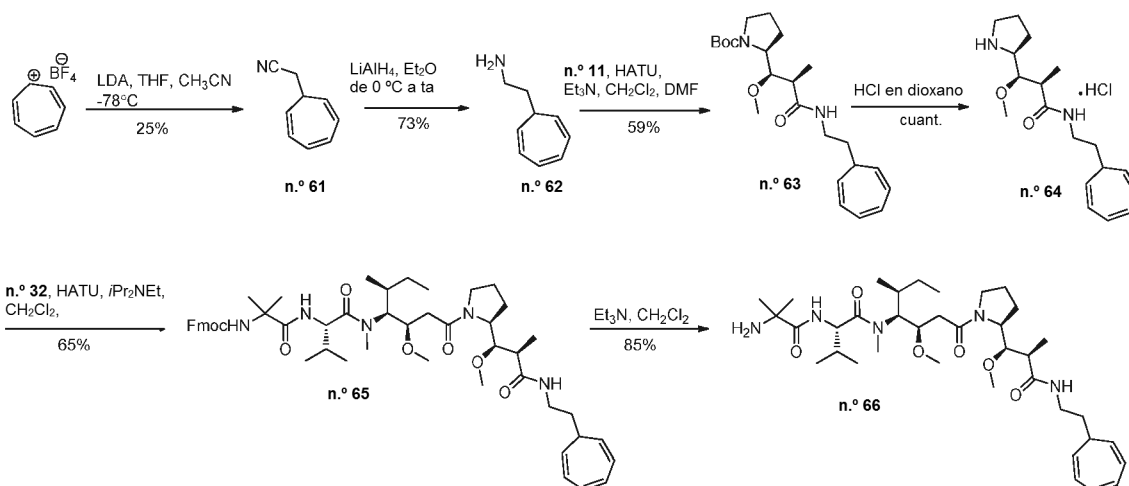
25 **Etapa 3.** Síntesis de (2*R*,3*R*)-3-metoxi-2-metil-*N*-[(1-fenilciclopropil)metil]-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal clorhidrato (n.º 58). De acuerdo con procedimiento general C, a partir de n.º 57 (566 mg, 1,36 mmol, 1 equiv.) en dioxano (4 ml, 0,3 M) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (4 ml, 16 mmol, 11,7 equiv.) se sintetizó n.º 58 (466 mg, 97 %); CL-EM: *m/z* 318,2 [M+H⁺], 339,2 [M+Na⁺], tiempo de retención = 0,56 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,53 (s a, 1H), 8,48 (s a, 1H), 8,11 (dd a, *J* = 5,7, 5,6 Hz, 1H), 7,23-7,30 (m, 4H), 7,14-7,21 (m, 1H), 3,58 (dd, *J* = 7,5, 3,9 Hz, 1H), 3,50 (dd, *J* = 13,7, 6,3 Hz, 1H), 3,34 (s, 3H), 3,21-3,29 (m a, 1H), 3,18 (dd, *J* = 13,8, 5,0 Hz, 1H), 3,04-3,13 (m a, 2H), 2,42-2,50 (m, 1H), 1,56-1,89 (m, 4H), 1,04 (d, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,71-0,91 (m, 4H).

30 **Etapa 4.** Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxo-heptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 59). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 32 (550 mg, 0,902 mmol, 1 equiv.), n.º 58 (350 mg, 0,992 mmol, 1,1 equiv.) diclorometano (10 ml, 0,08 M) y *N,N*-dimetilformamida (2 ml), HATU (446 mg, 1,17 mmol, 1,3 equiv.) y trietilamina (0,503 ml, 3,61 mmol, 4 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetona en heptano), produciendo n.º 59 (618 mg, 69 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CL-EM: *m/z* 908,7 [M+H⁺], 930,7 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,07 minutos; HPLC (Protocolo B a 45 °C): *m/z* 908,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 8,721 minutos (pureza > 97 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,89 (d, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,38-7,44 (m, 2H), 7,30-7,36 (m, 2H), [4,49 (dd, *J* = 8,5, 7,8 Hz) y 4,59 (dd, *J* = 8,7, 6,9 Hz), total 1H], 4,18-4,26 (m, 3H), 3,93-4,01 (m a, 1H), 3,23 y 3,26 (2 s, total 3H), 3,16 y 3,16 (2 s, total 3H), 2,91 y 3,05 (2 s a, total 3H), 1,36 y 1,37 (2 s a, total 3H), 1,30 y 1,32 (2 s a, total 3H), [1,00 (d, *J* = 6,7 Hz) y 1,02 (d, *J* = 6,6 Hz), total 3H], 0,67-0,78 (m, 7H).

40 **Etapa 5.** Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 60). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 59 (605 mg, 0,666 mmol, 1 equiv.) diclorometano (10 ml, 0,067 M) y

dietilamina (10 ml) se sintetizó **n.º 60** (379 mg, 83 %); HPLC (Protocolo A a 45 °C) m/z 685,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,072 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,03 (d a, $J = 9,6$ Hz) y 8,07 (d a, $J = 9,4$ Hz), total 1H], [7,74 (dd a, $J = 7, 4$ Hz) y 7,99 (dd a, $J = 5,9, 5,7$ Hz), total 1H], 7,20-7,27 (m, 4H), 7,11-7,17 (m, 1H), [4,49 (dd, $J = 9, 7$ Hz) y 4,58 (dd, $J = 9, 7,5$ Hz), total 1H], 3,96-4,04 (m a, 1H), 3,24 y 3,27 (2 s, total 3H), 3,18 y 3,19 (2 s, total 3H), 2,93 y 3,07 (2 s a, total 3H), 1,20 y 1,21 (2 s, total 3H), 1,12 y 1,14 (2 s, total 3H), [1,00 (d, $J = 6,7$ Hz) y 1,03 (d, $J = 6,7$ Hz), total 3H].

Preparación de 2-Metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 66)



Etapa 1. Síntesis de ciclohepta-2,4,6-trien-1-ilacetonitrilo (n.º 61). A una solución de acetonitrilo anhidro (3,12 ml, 56,2 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (281 ml, 0,2 M) se añadió diisopropilamina de litio (1,8 M en heptano/etilbenceno/ tetrahidrofurano, 31,2 ml, 56,2 mmol, 1 equiv.) a -78 °C. Después de 20 minutos a -78 °C, se añadió tetrafluoroborato de tropilio (10 g, 56 mmol, 1 equiv.). Después de 10 minutos, la reacción se concentró al vacío y el residuo se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar un aceite de color pardo, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 61** (1,88 g, 25 %) en forma de un aceite de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,69-6,71 (m, 2H), 6,27-6,32 (m, 2H), 5,28-5,33 (m, 2H), 2,61 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 2,26-2,34 (m, 1H).

Etapa 2. Síntesis de 2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etanamina (n.º 62). A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (911 mg, 24,0 mmol, 1,4 equiv.) en éter dietílico anhidro (75 ml, 0,23 M) a 0 °C se añadió lentamente, gota a gota durante 15 minutos, una solución de **n.º 61** (2,25 g, 17,2 mmol, 1 equiv.) en éter dietílico (15 ml). La reacción se calentó a temperatura ambiente. Después de 5 horas, la reacción se enfrió a 0 °C y se interrumpió mediante la adición de agua (1 ml), después se filtró a través de un lecho pequeño de Celite y se lavó con metanol. El filtrado se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar **n.º 62** (1,683 g, 73 %) en forma de un aceite de color dorado. CL-EM: m/z 136,1 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,23 minutos; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 6,64-6,67 (m, 2H), 6,16-6,21 (m, 2H), 5,16-5,21 (m, 2H), 2,84-2,89 (m, 2H), 1,86-1,92 (m, 2H), 1,62-1,70 (m, 1H).

Etapa 3. Síntesis de (2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (n.º 63). A una solución de **n.º 11** (3,57 g, 12,4 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (100 ml, 0,1 M) y *N,N*-dimetilformamida (4 ml) se añadió HATU (5,36 g, 13,7 mmol, 1,1 equiv.). Después de 20 minutos, se añadió trietilamina (5,20 ml, 37,3 mmol, 3 equiv.), seguido de **n.º 62** (1,68 g, 12,4 mmol, 1 equiv.) y la mezcla se agitó durante 18 horas. La reacción se concentró al vacío y el residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua (50 ml). La fase acuosa se extrajo de nuevo con acetato de etilo (3 veces) y las fases orgánicas combinadas se secaron, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite de color pardo, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 63** (2,95 g, rendimiento del 59 %) en forma de un aceite viscoso. CL-EM: m/z 405,4 [M+H⁺], 427,4 [M+Na⁺], tiempo de retención = 0,75 minutos; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), presuntamente una mezcla de rotámeros: δ 6,63-6,68 (m, 2H), 6,16-6,23 (m, 2H), 5,19 (dd a, $J = 9,0, 5,8$ Hz, 2H), 3,51-3,63 y 3,71-3,90 (2 multipletes a, total 3H), 3,42 (s, 3H), 3,18-3,29 y 3,34-3,47 (2 multipletes a, total 3H), 2,27-2,45 (m a, 1H), 1,6-2,00 (m, 7H), 1,47 y 1,50 (2 s a, total 9H), 1,16-1,29 (m a, 3H).

Etapa 4. Síntesis de (2R,3R)-N-[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal clorhidrato (n.º 64)

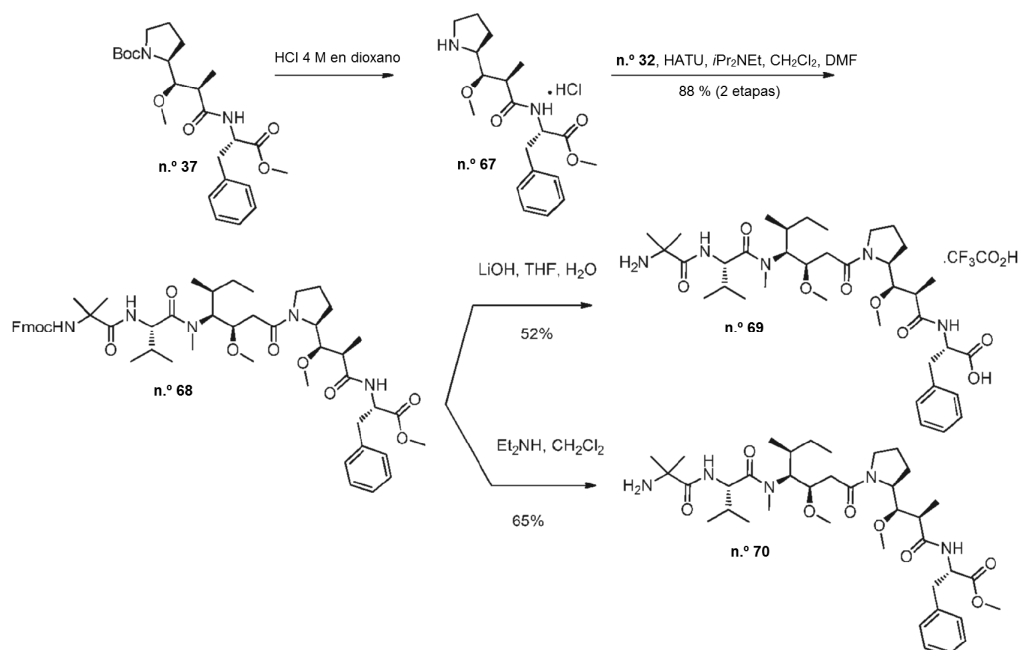
El Intermedio **n.º 63** (400 mg, 0,989 mmol, 1 equiv.) se trató con una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (10 ml, 40 mmol, 40 equiv.). Después de 1 hora, la mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se recogió

en diclorometano y se lavó con una solución 1 M de hidróxido sódico. La fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío para proporcionar **n.º 64** (301 mg, cuantitativo) en forma de un aceite de color pardo, que comenzó a solidificarse lentamente tras un periodo de reposo. CL-EM: m/z 305,3 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 0,54 minutos; HPLC (Protocolo G): tiempo de retención = 4,848 minutos; RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$), señales características: δ 6,64-6,67 (m, 2H), 6,16-6,22 (m, 2H), 6,08-6,14 (m a, 1H), 5,16-5,22 (m, 2H), 3,44 (s, 3H), 3,31 (dd, $J = 6,3, 4,5$ Hz, 1H), 2,98-3,04 (m, 1H), 2,94 (ddd, $J = 10,5, 7,2, 5,6$ Hz, 1H), 2,81 (ddd, $J = 10,5, 7,7, 6,7$ Hz, 1H), 2,57 (cd, $J = 7,1, 4,5$ Hz, 1H), 1,90-1,97 (m, 2H), 1,49-1,55 (m, 1H), 1,18 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Etapa 5. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 65**). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de **n.º 32** (678 mg, 0,937 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (9,37 ml, 0,1 M), la amina **n.º 64** (300 mg, 0,985 mmol, 1,1 equiv.), HATU (427 mg, 1,12 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (494 μ l, 2,81 mmol, 3 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano), produciendo **n.º 65** (546 mg, 65 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 896,7 $[M+H]^+$, 918,7 $[M+Na]^+$, tiempo de retención = 1,06 minutos.

Etapa 6. Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 66**). A una solución de **n.º 65** (540 mg, 0,603 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (10 ml, 0,06 M) se añadió trietilamina (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar **n.º 66** (347 mg, 85 %) en forma de un sólido incoloro. HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 674,5 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 7,015 minutos. RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,03 (d a, $J = 9$ Hz) y 8,05 (d a, $J = 9$ Hz), total 1H], [7,77 (dd a, $J = 5,5, 5,5$ Hz) y 7,98 (dd a, $J = 5,5, 5,5$ Hz), total 1H], 6,54-6,65 (m, 2H), 6,10-6,19 (m, 2H), 5,11-5,19 (m, 2H), [4,48 (dd, $J = 9, 8$ Hz) y 4,54 (dd, $J = 9, 7,5$ Hz), total 1H], 3,94-4,04 (m a, 1H), 3,26 y 3,29 (2 s, total 3H), 3,17 y 3,19 (2 s, total 3H), 2,93 y 3,06 (2 s a, total 3H), 1,20 y 1,21 (2 s, total 3H), 1,12 y 1,13 (2 s, total 3H), [1,04 (d, $J = 6,8$ Hz) y 1,07 (d, $J = 6,7$ Hz), total 3H].

Preparación de 2-Metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 69**) y 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 70**)**



Etapa 1. Síntesis de *N*-[(2R,3R)-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanoil]-L-fenilalaninato de metilo, sal clorhidrato (**n.º 67**). De acuerdo con procedimiento general C, a partir de **n.º 37** (2,39 g, 5,33 mmol, 1 equiv.) en dioxano (10 ml, 0,53 M) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (10 ml, 40 mmol, 7,5 equiv.) se sintetizó **n.º 67** (2,21 g) en forma de un sólido de color blanco, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM: m/z 349,2 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 0,53 minutos; RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9,45-9,58 (m a, 1H), 8,63 (d, $J = 8,1$ Hz, 1H), 8,51-8,62 (m a, 1H), 7,25-7,33 (m, 4H), 7,18-7,25 (m, 1H), 4,50 (ddd, $J = 10,8, 8,1, 4,5$ Hz, 1H), 3,65 (s, 3H), 3,54 (dd, $J = 6,8, 4,5$ Hz, 1H), 3,20 (s, 3H), 3,11 (dd, $J = 13,8, 4,5$ Hz, 1H), 2,99-3,14 (m a, 3H),

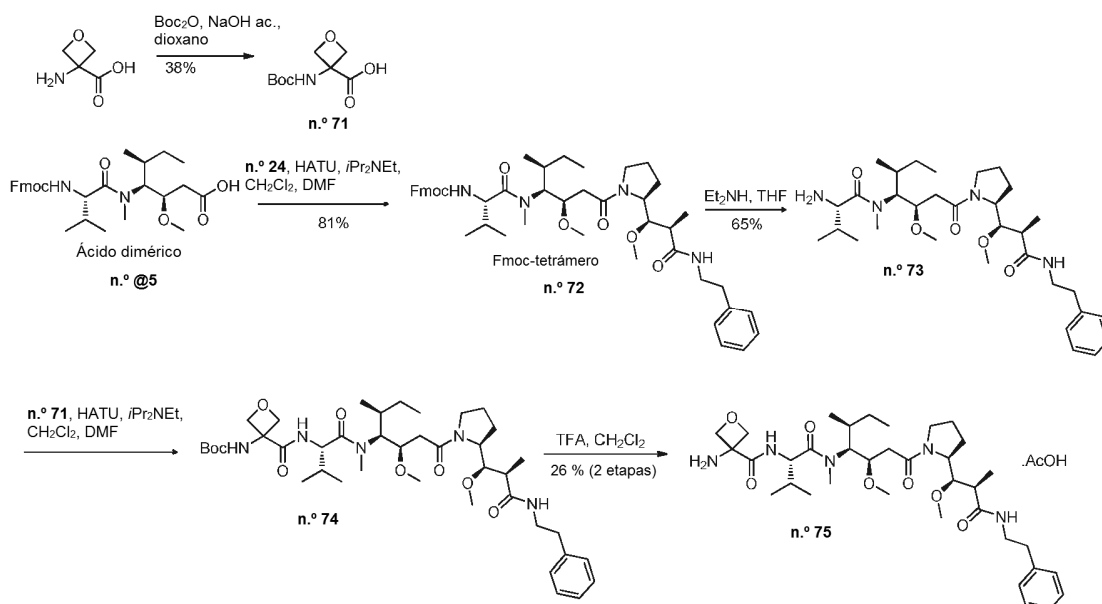
2,89 (dd, $J = 13,8, 10,9$ Hz, 1H), 2,44-2,50 (m, 1H, supuesto; parcialmente oscurecido por pico de disolvente), 1,77-1,89 (m, 1H), 1,60-1,73 (m, 2H), 1,46-1,57 (m, 1H), 1,05 (d, $J = 6,8$ Hz, 3H).

Etapa 2. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 68**). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de **n.º 32** (353 mg, 0,488 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (10 ml, 0,04 M), la amina **n.º 67** (271 mg, <0,588 mmol, 1,3 equiv.), HATU (223 mg, 0,586 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (238 μ l, 1,71 mmol, 3,5 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 40 % de acetona en heptano), proporcionando **n.º 68** (404 mg, 88 % en dos etapas) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 940,7 [M+H⁺], 962,7 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,04 minutos; HPLC (Protocolo C): tiempo de retención = 9,022 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,25 (d a, $J = 8$ Hz) y 8,48 (d a, $J = 8$ Hz), total 1H], 7,89 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), 7,67-7,75 (m, 2H), 7,38-7,44 (m, 2H), 7,31-7,36 (m, 2H), 7,14-7,24 (m, 5H), 4,43-4,69 (m, 3H), 4,17-4,26 (m, 3H), 3,91-3,99 (m a, 1H), 3,63 y 3,65 (2 s, total 3H), 3,19 y 3,24 (2 s, total 3H), 3,14 y 3,15 (2 s, total 3H), 2,90 y 2,99 (2 s a, total 3H), 1,36 y 1,37 (2 s a, total 3H), 1,30 y 1,32 (2 s, total 3H), [1,02 (d, $J = 6,8$ Hz) y 1,06 (d, $J = 6,6$ Hz), total 3H].

Etapa 3A. Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 69**). A una solución de **n.º 68** (143 mg, 0,152 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (5 ml, 0,02 M) se añadió una solución de hidróxido de litio (9,10 mg, 0,378 mmol, 2,5 equiv.) en agua (3 ml). Después de 5 horas, la reacción se concentró al vacío, se destiló azeotrópicamente tres veces con heptano, se disolvió en dimetilsulfóxido (2,2 ml) y se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para dar **n.º 69** (56 mg, 52 %). HPLC (Protocolo A a 45 °C): 704,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 6,623 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 8,08-8,22 y 8,37-8,49 (2 m, total 5H), 7,12-7,28 (m, 5H), 3,18, 3,20 y 3,24 (3 s, total 6H), 2,95 y 3,04 (2 s a, total 3H), 1,52 y 1,53 (2 s, total 3H), 1,39 y 1,41 (2 s, total 3H), [1,02 (d, $J = 6,8$ Hz) y 1,05 (d, $J = 6,6$ Hz), total 3H], 0,74-0,81 (m, 3H).

Etapa 3B. Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 70**). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de **n.º 68** (240 mg, 0,255 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,026 M) y dietilamina (10 ml) se sintetizó **n.º 70** (120 mg, 65 %) en forma de una mezcla de sólido/cristal de color blanco después de cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano). HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 762,7 [M+H⁺], 740,4 [M+Na⁺], tiempo de retención = 6,903 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,26 (d, $J = 8,1$ Hz) y 8,49 (d, $J = 8,3$ Hz), total 1H], [8,03 (d, $J = 9,5$ Hz) y 8,07 (d, $J = 9,5$ Hz), total 1H], 7,14-7,27 (m, 5H), 3,63 y 3,67 (2 s, total 3H), 3,16, 3,18, 3,20 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,92 y 3,01 (2 s a, total 3H), 1,20 y 1,22 (2 s, total 3H), 1,12 y 1,13 (2 s, total 3H), [1,02 (d, $J = 6,8$ Hz) y 1,06 (d, $J = 6,7$ Hz), total 3H], 0,74-0,80 (m, 3H).

Preparación de *N*²-[(3-Aminooxetan-3-il)carbonil]-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletil)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido acético (n.º 75**)**



Etapa 1. Síntesis de ácido 3-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]oxetano-3-carboxílico (n.º 71). A ácido 1-aminooxetano-3-carboxílico (1,00 g, 8,54 mmol, 1 equiv.) en dioxano (15 ml, 0,5 M) se añadió una solución de hidróxido sódico (1,55 g, 38,7 mmol, 4,5 equiv.) en agua (15 ml) seguido de dicarbonato de di-*terc*-butilo (2,09 g, 9,29 mmol, 1,1 equiv.). Se formó un sólido de color blanco. La reacción se agitó durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío para dar n.º 71 (633 mg, 38 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), se presume que es una mezcla de rotámeros: δ 12,93 (s a, 1H), 7,59 y 7,93 (2 s a, total 1H), 4,71-4,78 (m, 2H), 4,47 (d, *J* = 6,4 Hz, 2H), 1,30 y 1,38 (2 s, total 9H).

Etapa 2. Síntesis de *N*²-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 72). A n.º 5 (9,47 g, 18,0 mmol, 1 equiv.) y n.º 24 (5,90 g, 18,0 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (250 ml, 0,072 M) se añadieron diisopropiletilamina (9,52 ml, 54,2 mmol, 3 equiv.) y HATU (8,49 g, 21,7 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se agitó durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (300 ml) y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 100 ml) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se recogió en diclorometano (250 ml) y se filtró. El filtrado se concentró al vacío sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano) para proporcionar n.º 72 (11,61 g, 81 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. CL-EM: *m/z* 797,6 [M+H⁺], 819,6 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,06 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 3,26 y 3,28 (2 s, total 3H), 3,18 y 3,20 (2 s, total 3H), 2,95 y 3,10 (2 s a, total 3H), 1,01-1,09 (m, 3H), 0,67-0,78 (m, 3H).

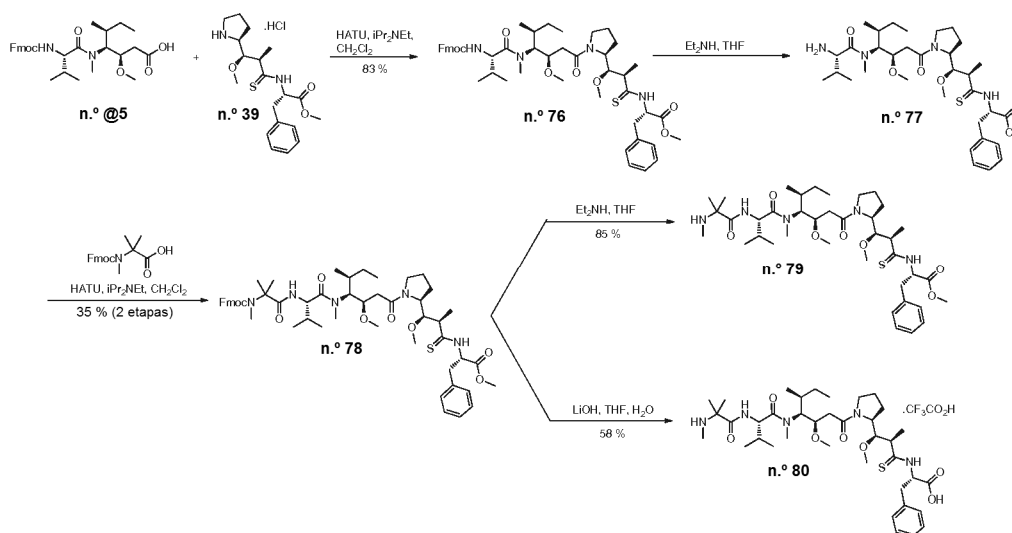
Etapa 3. Síntesis de *N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 73). A n.º 72 (5,16 g, 6,47 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (10 ml, 0,65 M) se añadió dietilamina (10 ml). Después de 2 horas, la reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar n.º 73 (2414 mg, 65 %). CL-EM: *m/z* 576,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,64 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,80-7,88 y 7,99-8,10 (2 m, total 1H), 7,14-7,31 (m, 5H), 3,17 y 3,18 (2 s, total 3H), 2,87 y 3,03 (2 s a, total 3H), 1,02-1,08 (m, 3H).

Etapa 4. Síntesis de *N*²-{(3-[(*terc*-butoxicarbonil)amino]oxetan-3-il)carbonil)-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 74). A n.º 73 (100 mg, 0,174 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (4 ml, 0,04 M) y *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml) se añadió n.º 71 (45,2 mg, 0,208 mmol, 1,2 equiv.), seguido de diisopropiletilamina (92 µl, 0,521 mmol, 3 equiv.) y HATU (102 mg, 0,260 mmol, 1,5 equiv.). Después de 16 horas, la reacción se concentró al vacío y el residuo se recogió en acetato de etilo (6 ml) y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 2 ml) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para dar n.º 74 (140 mg), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM: *m/z* 774,7 [M+H⁺], 796,6 [M+Na⁺], tiempo de retención = 0,91 minutos.

Etapa 5. Síntesis de *N*²-[(3-aminooxetan-3-il)carbonil)-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido acético (n.º 75). A n.º 74 (140 mg, ≤0,181 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (3 ml, 0,06 M) se añadió ácido trifluoroacético (1 ml). Después de 1 hora, la reacción se concentró al vacío y el residuo se recogió en acetato de etilo (6 ml) y se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (2 ml) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. La mitad del material en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento B) para dar n.º 75 (16 mg, 26 %, en dos etapas). CL-EM: *m/z* 674,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,68 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): *m/z* 674,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,128 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,80-7,87 y 8,02-8,07 (2 m, total 2H), 7,23-7,30 (m, 2H), 7,14-7,22 (m, 3H), 4,28-4,33 (m, 2H), 3,96-4,04 (m a, 1H), 3,17 y 3,19 (2 s, total 3H), 2,96 y 3,10 (2 s a, total 3H), [1,04 (d, *J* = 7,0 Hz) y 1,07 (d, *J* = 6,6 Hz), total 3H].

Preparación de N,2-Dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{2S}-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 79) y N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-{2S}-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 80)

5



Etapa 1. Síntesis de N-[(2R,3R)-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi) carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanotioil]-L-fenilalaninato de metilo (n.º 76). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 5 (260 mg, 0,648 mmol, 1 equiv.), n.º 39 (340 mg, <0,629 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,065 M), HATU (296 mg, 0,778 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (339 µl, 1,94 mmol, 3 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 40 % de acetona en heptano) para dar n.º 76 (466 mg, 83 % en dos etapas) en forma de un sólido. CL-EM: *m/z* 871,5 [M+H⁺], 893,5 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,10 minutos; HPLC (Protocolo C): tiempo de retención = 9,249 minutos (pureza > 99 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,19 (d a, *J* = 7,4 Hz) y 10,49 (d a, *J* = 7,8 Hz), total 1H], 7,89 (d a, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,68-7,75 (m, 2H), 7,54-7,60 (m, 1H), 7,41 (dd a, *J* = 7,4, 7,4 Hz, 2H), 7,28-7,36 (m, 2H), 7,15-7,28 (m, 5H), [5,20 (ddd, *J* = 10,9, 7,3, 4,4 Hz) y 5,34-5,43 (m), total 1H], 3,65 y 3,69 (2 s, total 3H), 3,24 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,17 (s a, 3H), 2,93 y 2,98 (2 s a, total 3H), [1,15 (d, *J* = 6,6 Hz) y 1,18 (d, *J* = 6,6 Hz), total 3H].

Etapa 2. Síntesis de N-[(2R,3R)-3-metoxi-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanotioil]-L-fenilalaninato de metilo (n.º 77). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 76 (460 mg, 0,528 mmol, 1 equiv.) tetrahidrofurano (8 ml, 0,07 M) y dietilamina (8 ml) se sintetizó n.º 77 (399 mg), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional; CL-EM *m/z* 649,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,73 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales de producto características: δ [10,20 (d, *J* = 7,4 Hz) y 10,49 (d, *J* = 7,4 Hz), total 1H], 7,15-7,28 (m, 5H), [5,20 (ddd, *J* = 10,9, 7,2, 4,5 Hz) y 5,34-5,42 (m), total 1H], 3,65 y 3,68 (2 s, total 3H), 3,24 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,15 y 3,15 (2 s, total 3H), 2,83 y 2,88 (2 s a, total 3H), [1,15 (d, *J* = 6,6 Hz) y 1,18 (d, *J* = 6,6 Hz), total 3H].

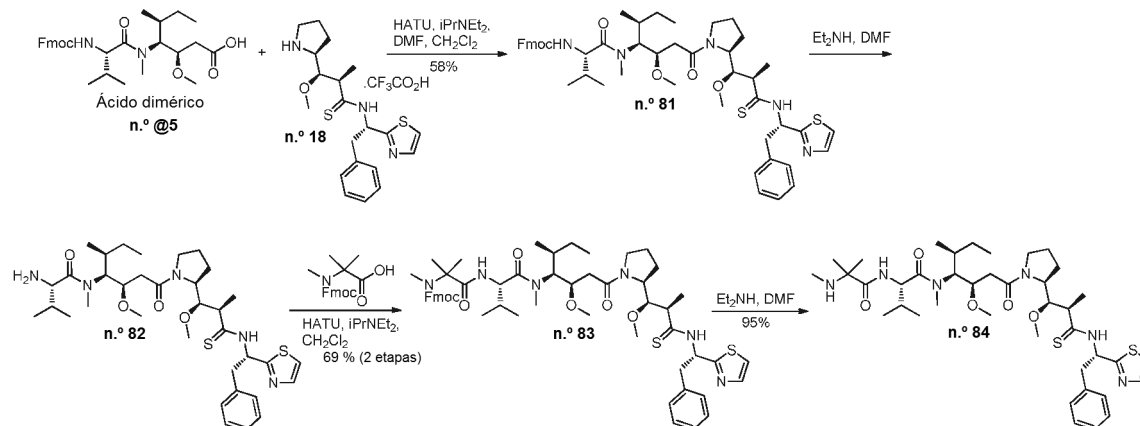
Etapa 3. Síntesis de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{2S}-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 78). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 77 (399 mg, <0,52 mmol, 1 equiv.), N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N,2-dimetilalanina (213 mg, 0,628 mmol, 1,2 equiv.), diclorometano (5 ml, 0,1 M), HATU (239 mg, 0,628 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (282 µl, 1,62 mmol, 3,1 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano), proporcionando n.º 78 (231 mg, 46 % en dos etapas). CL-EM: *m/z* 970,7 [M+H⁺], 992,6 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,11 minutos; HPLC (Protocolo C): tiempo de retención = 9,260 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,19 (d, *J* = 7,4 Hz) y 10,47 (d, *J* = 7,8 Hz), total 1H], 7,89 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,61-7,67 (m, 2H), 7,41 (dd a, *J* = 7,4, 7,4 Hz, 2H), 7,14-7,36 (m, 8H), [5,20 (ddd, *J* = 11,7, 5 Hz) y 5,38 (ddd, *J* = 11,8, 4 Hz), total 1H], [4,41 (dd, *J* = 8,6, 8,4 Hz) y 4,46 (dd, *J* = 8,2, 8,2 Hz), total 1H], 3,65 y 3,68 (2 s, total 3H), 3,23 y 3,24 (2 s, total 3H), 3,13 (s a, 3H), 2,88 y 2,93 (2 s a, total 3H), 2,84 y 2,85 (2 s, total 3H), 1,31 y 1,32 (2 s, total 3H), [1,15 (d, *J* = 6,6 Hz) y 1,18 (d, *J* = 6,4 Hz), total 3H].

Etapa 4A. Síntesis de N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{2S}-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 79). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 78 (223 mg, 0,230 mmol, 1 equiv.), diclorometano (6 ml, 0,04 M) y dietilamina (6 ml) se sintetizó n.º 79 (146 mg, 85 %) en forma de un sólido de color blanco después de

5 cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 5 % de metanol en heptano después de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano). HPLC (Protocolo A a 45 °C): 749,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,315 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,20 (d, J = 7,6 Hz) y 10,50 (d, J = 8,0 Hz), total 1H], 7,79-7,88 (m, 1H), 7,15-7,29 (m, 5H), [5,20 (ddd, J = 11, 7, 4 Hz) y 5,38 (ddd, J = 11, 8, 4 Hz), total 1H], [4,50 (dd, J = 8,8, 8,6 Hz) y 4,56 (dd, J = 9, 8 Hz), total 1H], 3,65 y 3,69 (2 s, total 3H), 3,24 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,16 (s a, 3H), 2,93 y 2,97 (2 s a, total 3H), 2,10 y 2,11 (2 s, total 3H).

10 **Etapa 4B.** Síntesis de N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 80**). A una solución de **n.º 78** (170 mg, 0,175 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (3 ml, 0,04 M) se añadió una solución de hidróxido de litio (12,6 mg, 0,525 mmol, 3 equiv.) en agua (1,5 ml). Después de agitar durante una noche, el disolvente se retiró al vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente tres veces con heptano. Después, el residuo se diluyó con dimetilsulfóxido (2,2 ml) y se purificó cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para proporcionar **n.º 80** (74 mg, 58 %) en forma de un sólido. CL-EM: *m/z* 734,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,69 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): 734,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 6,903 minutos (pureza > 96 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 12,9 y 13,1 (2 x s a, total 1H), [10,12 (d, J = 7,4 Hz) y 10,46 (d, J = 7,8 Hz), total 1H], 8,77-8,89 (m a, 2H), [8,47 (d, J = 8,6 Hz) y 8,51 (d, J = 8,6 Hz), total 1H], 7,21-7,29 (m, 4H), 7,14-7,21 (m, 1H), [5,16-5,23 (m) y 5,38 (ddd, J = 11,3, 8,2, 3,9 Hz), total 1H], [4,51 (dd, J = 9,0, 9,0 Hz) y 4,57 (dd, J = 9,4, 8,6 Hz), total 1H], 3,24 y 3,24 (2 s, total 3H), 3,18 y 3,19 (2 s, total 3H), 2,96 y 3,00 (2 s a, total 3H), 1,51 y 1,53 (2 s, total 3H), 1,40 y 1,42 (2 s, total 3H), 1,14-1,19 (m, 3H), 0,74-0,81 (m, 3H).

Preparación de N,2-Dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 84**)**



25 **Etapa 1.** Síntesis de N²-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**n.º 81**). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de **n.º 5** (620 mg, 1,18 mmol, 1 equiv.) diclorometano (10 ml, 0,1 M), amina **n.º 18** (604 mg, 1,42 mmol, 1,2 equiv.), diisopropiletilamina (618 µl, 3,54 mmol, 3 equiv.) y HATU (539 mg, 1,42 mmol, 1,2 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetona en heptano) para dar **n.º 81** (737 mg, 58 %). HPLC (Protocolo C): tiempo de retención = 9,235 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, J = 8 Hz) y 10,81 (d a, J = 8 Hz), total 1H], 7,89 (d, J = 7,6 Hz, 2H), [7,80 (d, J = 3,3 Hz) y 7,83 (d, J = 3,1 Hz), total 1H], 7,70-7,75 (m, 2H), [7,64 (d, J = 3,1 Hz) y 7,68 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,55-7,60 (m, 1H), 7,38-7,44 (m, 2H), 7,13-7,35 (m, 7H), [6,31 (ddd, J = 11,8, 4,5 Hz) y 6,40-6,48 (m), total 1H], 3,23 y 3,24 (2 s, total 3H), 3,17 y 3,22 (2 s, total 3H), 2,94 y 3,01 (2 s a, total 3H), [1,14 (d, J = 6,4 Hz) y 1,17 (d, J = 6,2 Hz), total 3H].

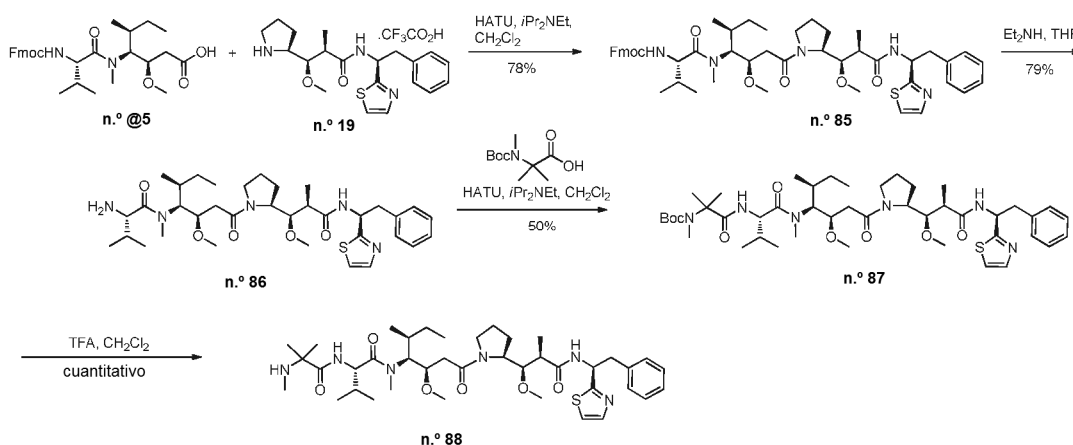
35 **Etapa 2.** Síntesis de N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**n.º 82**). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de **n.º 81** (733 mg, 0,818 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (7 ml, 0,1 M) y dietilamina (7 ml) se sintetizó **n.º 82** (670 mg), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM: *m/z* 674,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,29 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales de producto características: δ [10,55 (d a, J = 8 Hz) y 10,84 (d a, J = 8 Hz), total 1H], [7,64 (d, J = 3,1 Hz) y 7,69 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,13-7,33 (m, 5H), 6,27-6,35 y 6,38-6,47 (2 m, total 1H), 3,23 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,15 y 3,19 (2 s, total 3H), 2,84 y 2,91 (2 s a, total 3H).

40 **Etapa 3.** Síntesis de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil] amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**n.º 83**). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de **n.º 82** (670 mg, ≤ 0,818 mmol, 1

equiv.), diclorometano (5 ml, 0,16 M), *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*,2-dimetilalanina (304 mg, 0,896 mmol, 1,1 equiv.), HATU (372 mg, 0,978 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (440 μ l, 2,53 mmol, 3,1 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 30 % de acetona en heptano) para dar **n.º 83** (556 mg, 69 % en dos etapas). CL-EM: m/z 994,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,69 minutos; HPLC (Protocolo C): tiempo de retención = 9,333 minutos (pureza > 98 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,53 (d a, J = 8 Hz) y 10,80 (d a, J = 8 Hz), total 1H], 7,86-7,91 (m, 2H), [7,80 (d, J = 3,3 Hz) y 7,82 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], [7,64 (d, J = 3,2 Hz) y 7,68 (d, J = 3,2 Hz), total 1H], 7,62-7,66 (m, 2H), 7,38-7,44 (m, 2H), 7,28-7,36 (m, 5H), 7,19-7,26 (m, 2H), 7,12-7,17 (m, 1H), [6,31 (ddd, J = 11,8, 4,5 Hz) y 6,44 (ddd, J = 11,8, 5, 4,5 Hz), total 1H], [4,42 (dd, J = 9, 8 Hz) y 4,48 (dd, J = 8, 8 Hz), total 1H], 3,22 y 3,24 (2 s, total 3H), 3,13 y 3,17 (2 s, total 3H), 2,89 y 2,97 (2 s a, total 3H), 2,84 y 2,85 (2 s, total 3H), [1,13 (d, J = 6,4 Hz) y 1,16 (d, J = 6,4 Hz), total 3H].

Etapa 4. Síntesis de *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-((1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil)amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 84**). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de **n.º 83** (552 mg, 0,555 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (10 ml, 0,05 M) y dietilamina (10 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se diluyó con metanol, se concentró al vacío sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar **n.º 84** (406 mg, 95 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 772,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,35 minutos; HPLC (Protocolo A): 774,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,390 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [10,54 (d a, J = 8 Hz) y 10,81 (d a, J = 8 Hz), total 1H], 7,78-7,84 (m, 2H), [7,65 (d, J = 3,1 Hz) y 7,69 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,29-7,34 (m, 2H), 7,20-7,28 (m, 2H), 7,14-7,19 (m, 1H), 6,27-6,35 y 6,40-6,48 (2 m, total 1H), [4,51 (dd, J = 9, 8 Hz) y 4,57 (dd, J = 9, 8 Hz), total 1H], 3,24 y 3,25 (2 s, total 3H), 3,16 y 3,21 (2 s, total 3H), 2,94 y 3,00 (2 s a, total 3H), 2,09 y 2,10 (2 s, total 3H), 1,08 y 1,09 (2 s, total 3H), 0,73-0,80 (m, 3H).

N,2-Dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil)amino)propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 88**)**



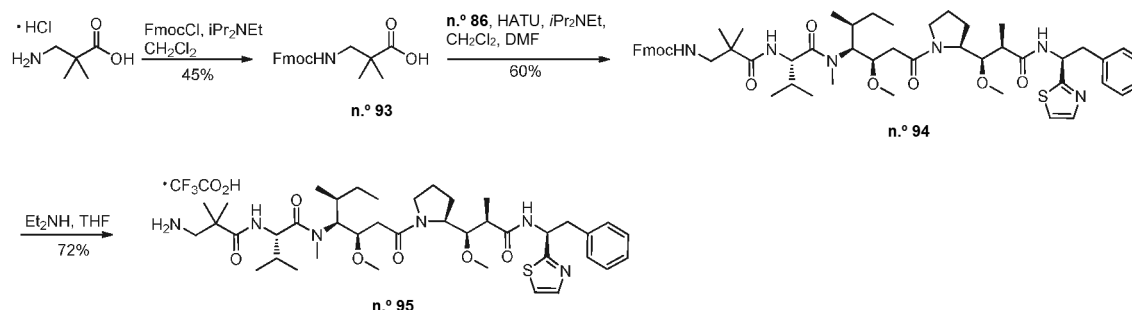
Etapa 1. Síntesis de *N*2-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil)amino) propil] pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 85**). A una mezcla de **n.º 5** (5,48 g, 10,4 mmol, 1 equiv.) y **n.º 19** (3,90 g, 10,4 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (50 ml, 0,2M) se añadió diisopropiletilamina (5,51 ml, 31,3 mmol, 3 equiv.) seguido de HATU (4,91 g, 12,5 mmol, 1,2 equiv.). Después de agitar durante una noche, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (100 ml) y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 30 ml) y con salmuera (30 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se recogió en diclorometano y se filtró; el filtrado se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano) para proporcionar **n.º 85** (7,20 g, 78 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 880,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,07 minutos.

Etapa 2. Síntesis de *N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil)amino)propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 86**). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de **n.º 85** (5,00 g, 5,68 mmol, 1 equiv.) en tetrahydrofurano (10 ml, 0,56 M) y dietilamina (3 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar **n.º 86** (2,952 g, 79 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 658,5 [M+H⁺], 680,5 [M+Na⁺]; tiempo de retención = 0,66 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,64 (d a, J = 8,4 Hz) y 8,90 (d a, J = 8,8 Hz), total 1H], [7,77 (d, J = 3,3 Hz) y 7,80 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], [7,63 (d, J = 3,3 Hz) y 7,66 (d, J = 3,3 Hz), total 1H], 7,12-7,31 (m, 5H), [5,39 (ddd, J = 11,2, 8,4, 4,2 Hz) y 5,54 (ddd, J = 11,9, 8,9, 4,0 Hz), total 1H], 3,15, 3,19, 3,20 y 3,26 (4 s, total 6H), 2,86 y 2,98 (2 s a, total 3H), [1,06 (d, J = 6,6 Hz) y 1,11 (d, J = 6,6 Hz), total 3H].

Etapa 3. Síntesis de *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-*N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino}propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 87**). A una mezcla de **n.º 86** (80,3 mg, 0,122 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (4 ml, 0,03 M) se añadió *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-*N*,2-dimetilalanina (29,1 mg, 0,134 mmol, 1,1 equiv.) seguido de diisopropiletilamina (64 µl, 0,365 mmol, 3 equiv.) y HATU (71,7 mg, 0,183 mmol, 1,5 equiv.). Después de agitar durante una noche, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (6 ml) y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 2 ml) y con salmuera. El disolvente orgánico se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se recogió en diclorometano y se filtró; el filtrado se concentró al vacío sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano) para proporcionar **n.º 87** (58 mg, 50 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: *m/z* 857,7 [M+H⁺], 879,7 [M+Na⁺], tiempo de retención = 0,99 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,64 (d a, *J* = 8 Hz) y 8,87 (d a, *J* = 9 Hz), total 1H], [7,77 (d, *J* = 3,3 Hz) y 7,80 (d, *J* = 3,3 Hz), total 1H], [7,63 (d, *J* = 3,2 Hz) y 7,66 (d, *J* = 3,2 Hz), total 1H], 7,13-7,31 (m, 5H), [6,95 (d a, *J* = 8 Hz) y 7,06 (d a, *J* = 8 Hz), total 1H], 5,35-5,42 y 5,51-5,58 (2 m, total 1H), 3,15, 3,19, 3,20 y 3,26 (4 s, total 6H), 2,94 y 3,03 (2 s a, total 3H), 2,83 y 2,84 (2 s, total 3H), [1,05 (d, *J* = 6,7 Hz) y 1,11 (d, *J* = 6,7 Hz), total 3H].

Etapa 4. Síntesis de *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino}propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 88**). A una mezcla de **n.º 87** (58 mg, 0,068 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (8 ml) se añadió ácido trifluoroacético (2 ml). Después de agitar durante una noche, la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (10 ml), se lavó con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío para dar **n.º 88** (52 mg, cuantitativo). CL-EM 757,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,69 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,64 (d a, *J* = 8,6 Hz) y 8,87 (d a, *J* = 8,6 Hz), total 1H], 7,80-7,85 (m, 1H), [7,77 (d, *J* = 3,3 Hz) y 7,80 (d, *J* = 3,1 Hz), total 1H], [7,63 (d, *J* = 3,1 Hz) y 7,66 (d, *J* = 3,3 Hz), total 1H], 7,20-7,31 (m, 4H), 7,13-7,19 (m, 1H), [5,39 (ddd, *J* = 11,8, 5, 4 Hz) y 5,49-5,56 (m), total 1H], [4,51 (dd, *J* = 9, 8 Hz) y 4,61 (dd, *J* = 9, 8 Hz), total 1H], 3,16, 3,20, 3,21 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,94 y 3,03 (2 s a, total 3H), 2,10 y 2,10 (2 s, total 3H), 1,16 (s a, 3H), 1,04-1,12 (m, 6H), 0,72-0,80 (m, 3H).

Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*²-(3-Amino-2,2-dimetilpropanoil)-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino}propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 95**)**



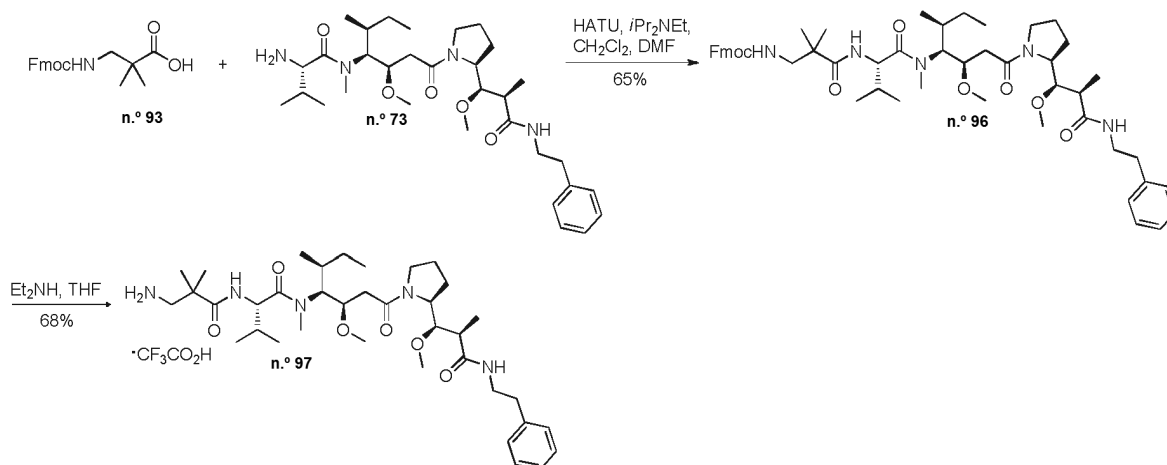
Etapa 1. Síntesis de ácido 3-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino)-2,2-dimetilpropanoico (**n.º 93**). A ácido 3-amino-2,2-dimetilpropanoico, sal clorhidrato (250 mg, 1,63 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (4 ml, 0,4 M) se añadió diisopropiletilamina (859 µl, 4,88 mmol, 3 equiv.), seguido de cloruro de (9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo (473 mg, 1,79 mmol, 1,1 equiv.). La reacción se agitó durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (3 ml) y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 1 ml) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetato de etilo en heptano) para dar **n.º 93** (250 mg, 45 %) en forma de un aceite. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12,22 (s, 1H), 7,89 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,72 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,38-7,44 (m, 2H), 7,27-7,35 (m, 3H), 4,18-4,30 (m, 3H), 3,16 (d, *J* = 6,2 Hz, 2H), 1,05 (s, 6H).

Etapa 2. Síntesis de *N*²-(3-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino)-2,2-dimetilpropanoil)-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-{(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino}propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 94**). A **n.º 86** (100 mg, 0,152 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (4 ml, 0,038 M) y *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml) se añadió **n.º 93** (51,6 mg, 0,152 mmol, 1 equiv.) seguido de diisopropiletilamina (80,0 µl, 0,457 mmol, 3 equiv.) y HATU (89,8 mg, 0,229 mmol, 1,5 equiv.). La reacción se agitó durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (6 ml) y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 2 ml) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se recogió en diclorometano (250 ml) y se filtró; el filtrado se concentró al vacío sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano) para proporcionar **n.º 94** (90 mg, 60 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: *m/z* 979,8 [M+H⁺], 1002,7 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,15 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros,

señales de producto características: δ [8,64 (d a, $J = 8,6$ Hz) y 8,86 (d a, $J = 8,6$ Hz), total 1H], 7,86-7,91 (m, 2H), [7,77 (d, $J = 3,3$ Hz) y 7,79 (d, $J = 3,3$ Hz), total 1H], 7,67-7,73 (m, 2H), [7,63 (d, $J = 3,3$ Hz) y 7,65 (d, $J = 3,3$ Hz), total 1H], 6,87-6,95 (m, 1H), [5,39 (ddd, $J = 11, 8, 4$ Hz) y 5,52 (ddd, $J = 11,5, 9, 4$ Hz), total 1H], [4,44 (dd, $J = 8,4, 8,4$ Hz) y 4,55 (dd, $J = 8,4, 8,4$ Hz), total 1H], 3,16, 3,20, 3,21 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,96 y 3,06 (2 s a, total 3H), 0,69-0,77 (m, 3H).

Etapa 3. Síntesis de *N*²-(3-amino-2,2-dimetilpropanoil)-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 95**). A **n.º 94** (86 mg, 0,088 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (2 ml, 0,04 M) se añadió dietilamina (10 ml). Después de agitar durante una noche, la reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para dar **n.º 5** (55 mg, 72 %). CL-EM: m/z 757,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,74 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [8,66 (d a, $J = 8$ Hz) y 8,92 (d a, $J = 9$ Hz), total 1H], [7,91 (d a, $J = 8$ Hz) y 7,97 (d a, $J = 9$ Hz), total 1H], [7,78 (d, $J = 3,3$ Hz) y 7,81 (d, $J = 3,1$ Hz), total 1H], 7,65-7,74 (m a, 3H), [7,63 (d, $J = 3,3$ Hz) y 7,67 (d, $J = 3,3$ Hz), total 1H], 7,12-7,31 (m, 5H), [5,35-5,42 (m) y 5,45-5,52 (m), total 1H], [4,44 (dd, $J = 9, 9$ Hz) y 4,55 (dd, $J = 9, 9$ Hz), total 1H], 3,17, 3,20, 3,22 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,96 y 3,05 (2 s a, total 3H), 1,25 y 1,25 (2 s, total 3H), 1,14 y 1,15 (2 s, total 3H), [1,06 (d, $J = 6,6$ Hz) y 1,10 (d, $J = 6,4$ Hz), total 3H], 0,72-0,80 (m, 3H).

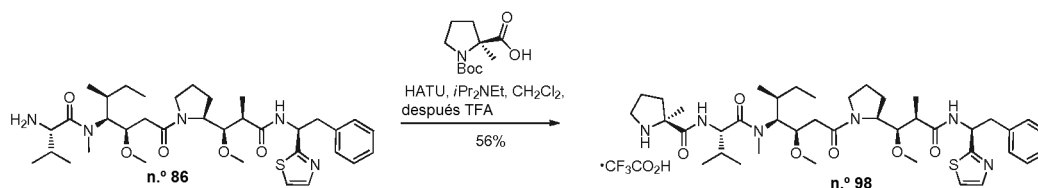
Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*²-(3-Amino-2,2-dimetilpropanoil)-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 97**)**



Etapa 1. Síntesis de *N*²-(3-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]amino)-2,2-dimetilpropanoil)-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 96**). A **n.º 73** (100 mg, 0,174 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (4 ml, 0,04 M) y *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml) se añadió **n.º 93** (59,1 mg, 0,174 mmol, 1 equiv.), seguido de diisopropiletilamina (92 μ l, 0,52 mmol, 3 equiv.) y HATU (102 mg, 0,260 mmol, 1,5 equiv.). La reacción se agitó durante 18 horas y después se concentró al vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo (6 ml) y se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 x 2 ml) y con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano) proporcionó **n.º 96** (102 mg, 65 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 896,7 [M+H⁺], 918,8 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,14 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales de producto características: δ 7,88 (d, $J = 7,4$ Hz, 2H), [7,83 (dd a, $J = 6, 5$ Hz) y 8,03 (dd a, $J = 6, 5$ Hz), total 1H], 7,67-7,73 (m, 2H), 7,36-7,48 (m, 3H), 7,22-7,35 (m, 4H), 7,13-7,21 (m, 3H), 6,86-6,96 (m, 1H), [4,44 (dd, $J = 8,6, 8,6$ Hz) y 4,50 (dd, $J = 8,6, 8,6$ Hz), total 1H], 3,18, 3,19, 3,26 y 3,29 (4 s, total 6H), 2,96 y 3,11 (2 s a, total 3H), 0,70-0,77 (m, 3H).

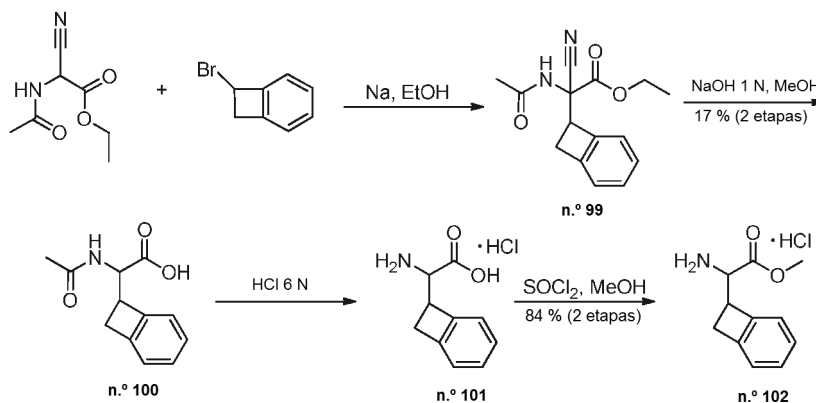
Etapa 2. Síntesis de *N*²-(3-amino-2,2-dimetilpropanoil)-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletíl)amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 97**). A **n.º 96** (98 mg, 0,11 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (2 ml, 0,04 M) se añadió dietilamina (0,5 ml). Después de agitar durante una noche, la reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para dar **n.º 97** (58 mg, 68 %). CL-EM: m/z 674,4 [M+H⁺], 696,4 [M+Na⁺], tiempo de retención = 0,74 minutos; HPLC (Protocolo A): 674,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,072 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [7,92 (d a, $J = 8$ Hz) y 7,97 (d a, $J = 8$ Hz), total 1H], [7,86 (dd a, $J = 6, 5$ Hz) y 8,07 (dd a, $J = 6, 5$ Hz), total 1H], 7,64-7,74 (m a, 3H), 7,15-7,29 (m, 5H), [4,44 (dd, $J = 9, 9$ Hz) y 4,50 (dd, $J = 9, 9$ Hz), total 1H], 3,26 y 3,29 (2 s, total 3H), 3,18 y 3,20 (2 s, total 3H), 2,96 y 3,10 (2 s a, total 3H), 1,24 y 1,25 (2 s, total 3H), 1,14 y 1,16 (2 s, total 3H), 1,02-1,07 (m, 3H), 0,73-0,80 (m, 3H).

Preparación de 2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino}propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 98)



- 5 A una mezcla de 1-(*tert*-butoxicarbonil)-2-metil-L-prolina (65,1 mg, 0,284 mmol, 1,1 equiv.) y n.º 86 (170 mg, 0,258 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (5 ml, 0,03 M) se añadió HATU (0,108 mg, 0,284 mmol, 1,1 equiv.), seguido de diisopropiletilamina (139 µl, 0,800 mmol, 3,1 equiv.). Después de agitar durante una noche, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se añadió diclorometano (3 ml), seguido de la adición lenta de ácido trifluoroacético (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 5 minutos, se dejó calentar a temperatura ambiente y después se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de concentrarse al vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente dos veces con heptano, se diluyó con una pequeña cantidad de diclorometano y metanol antes de concentrarse al vacío sobre sílice. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) y después por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para proporcionar n.º 98 (128 mg, 56 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: m/z 769,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,28 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C) m/z 769,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,146 minutos (pureza > 98 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 9,03-9,15 (m, 1H), 8,77-8,86 (m, 1H), 8,69-8,76 (m, 1H), [8,66 (d, *J* = 8,2 Hz) y 8,92 (d, *J* = 8,6 Hz), total 1H], [7,78 (d, *J* = 3,1 Hz) y 7,80 (d, *J* = 3,5 Hz), total 1H], [7,63 (d, *J* = 3,1 Hz) y 7,67 (d, *J* = 3,1 Hz), total 1H], 7,12-7,31 (m, 5H), [5,38 (ddd, *J* = 11,8, 4 Hz) y 5,47 (ddd, *J* = 11,9, 4 Hz), total 1H], [4,46 (dd, *J* = 9,4, 9,0 Hz) y 4,55 (dd, *J* = 9,0, 8,6 Hz), total 1H], 3,17, 3,20, 3,22 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,98 y 3,04 (2 s a, total 3H), [1,06 (d, *J* = 7,0 Hz) y 1,09 (d, *J* = 6,6 Hz), total 3H], 0,73-0,80 (m, 3H).

Preparación de amino(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)acetato de metilo, sal clorhidrato (n.º 102)



- 25 **Etapa 1.** Síntesis de (acetilamino)(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)cianoacetato de etilo (n.º 99). Se dejó que sodio (464 mg, 20,2 mmol, 1,2 equiv.) reaccionara con etanol absoluto (40 ml, 0,42 M); a la mezcla resultante se le añadió 2-(acetilamino)-2-cianoacetato de etilo (3,44 g, 20,2 mmol, 1,2 equiv.). Después de 20 minutos a 60 °C, se añadió 7-bromobiciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trieno (3,092 g, 16,89 mmol, 1 equiv.) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche, después se filtró y se concentró al vacío. El residuo se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío para dar un aceite oscuro, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetato de etilo en heptano) para dar n.º 99 (4,38 g) en forma de una goma de color amarillo. CL-EM: m/z 273,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,36 minutos.

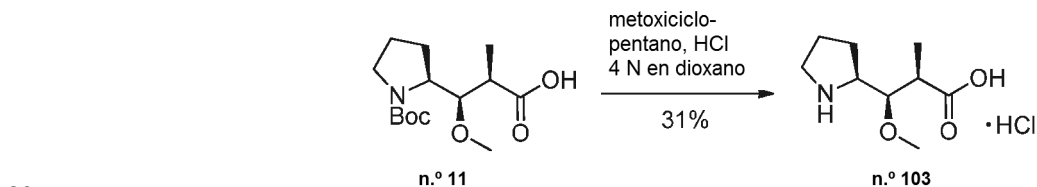
- 35 **Etapa 2.** Síntesis de ácido (acetilamino)(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)acético (n.º 100). A una mezcla de n.º 99 (4,38 mg, <16,1 mmol, 1 equiv.) en metanol (30 ml, 0,53 M) se añadió una solución acuosa 1 N de hidróxido sódico (38 ml, 38 mmol, 2,4 equiv.). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante una noche, después se concentró al vacío, se diluyó con agua (40 ml) y se acidificó con una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico (40 ml). La fase acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 30 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite resultante se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Disolvente A: diclorometano; Disolvente B: metanol al 20 % en diclorometano que contenía ácido trifluoroacético al 0,02 %; Gradiente: de 0 % a 40 % de B) después por cromatografía de fluidos supercríticos (Columna: Chiralpak AD-

H, 250 x 21 mm; Eluyente: 85:15 de dióxido de carbono/metanol; Caudal: 65 g/min; Detección: 210 nm; Instrumento: sistema de SFC preparativa Berger minigram). El segundo pico de elusión se aisló para dar **n.º 100** (600 mg, 17 % en dos etapas) en forma de un enantiómero individual (tiempo de retención = 3,37 minutos, pureza >99 %). CL-EM: m/z 220,3 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 2,10 minutos; RMN 1H (400 MHz, CD_3OD) δ 7,14-7,24 (m, 2H), 7,03-7,09 (m, 2H), 4,59 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 3,87 (ddd, $J = 8,5, 5,3, 2,4$ Hz, 1H), 3,35 (dd, $J = 14,5, 5,4$ Hz, 1H, supuesto; parcialmente oscurecido por pico de disolvente), 3,10 (dd, $J = 14,4, 2,4$ Hz, 1H), 2,00 (s, 3H). Rotación óptica: $[\alpha]_D^{25} + 70,9^\circ$ (c 0,67, metanol)

Etapa 3. Síntesis de ácido amino(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)acético, sal clorhidrato (**n.º 101**). Una mezcla de **n.º 100** (200 mg, 0,912 mmol, 1 equiv.) y ácido clorhídrico acuoso 6 N (12,3 ml, 73,8 mmol, 81 equiv.) se calentó a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío para dar el enantiómero individual **n.º 101** (195 mg) en forma de un sólido de color blanquecino, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

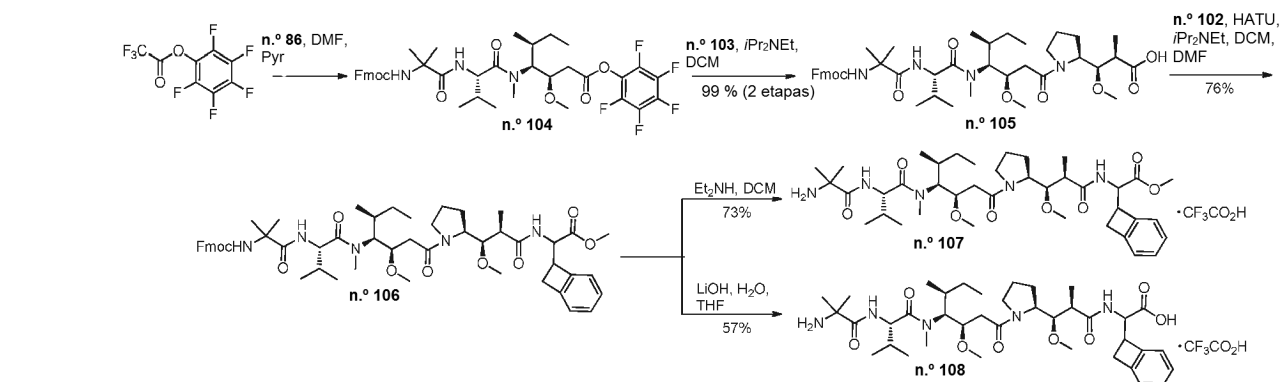
Etapa 4. Síntesis de amino(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)acetato de metilo, sal clorhidrato (**n.º 102**). A una mezcla de **n.º 101** (195 mg, <0,913 mmol, 1 equiv.) en metanol (20 ml, 0,04 M) se añadió cloruro de tionilo (0,666 ml, 9,13 mmol, 10 equiv.). Después de dos horas a reflujo, la mezcla de reacción se concentró al vacío para dar el enantiómero individual **n.º 102** (175 mg, 84 % en dos etapas) en forma de un sólido de color claro. CL-EM: m/z 192,3 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 0,80 minutos; CG-EM: m/z 192 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 3,206 minutos; RMN 1H (400 MHz, CD_3OD) δ 7,24-7,33 (m, 2H), 7,11-7,18 (m, 2H), 4,40 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 3,99-4,05 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 3,46 (dd, $J = 14,8, 5,4$ Hz, 1H), 3,23 (dd, $J = 14,8, 2,5$ Hz, 1H).

Preparación de ácido (2R,3R)-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanoico, sal clorhidrato (**n.º 103**)



A una mezcla de **n.º 11** (4,09 g, 14,2 mmol, 1 equiv.) en ciclopentil metil éter (10 ml, 0,14 M) se añadió una solución 4 N de cloruro de hidrógeno en dioxano (37 ml, 100 mmol, 7 equiv.). Después de tres horas, la mezcla de reacción se concentró al vacío y se destiló azeotrópicamente tres veces con heptano para dar **n.º 103** (1000 mg, 31 %) en forma de una goma, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN 1H (400 MHz, $DMSO-d_6$) δ 9,92-10,06 (s a, 1H), 8,66-8,80 (s a, 1H), 3,89 (dd, $J = 5,2, 4,9$ Hz, 1H), 3,43-3,53 (m, 1H), 3,39 (s, 3H), 3,06-3,17 (m, 2H), 2,66 (cd, $J = 7,1, 4,6$ Hz, 1H), 1,71-2,03 (m, 4H), 1,11 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Preparación de 2-Metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1-(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)-2-metoxi-2-oxoetil] amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 107**) y 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il(carboxi)metil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 108**)**

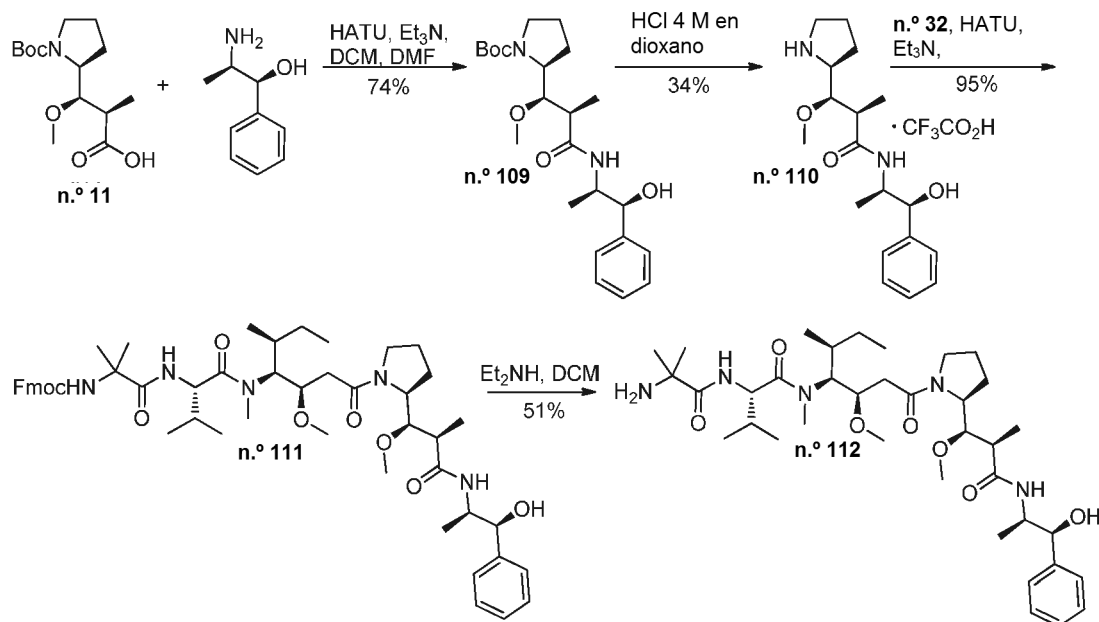


Etapa 1. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonyl]-2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-1-oxo-1-(pentafluorofenoxi)heptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 104**). A **n.º 32** (4,00 g, 6,56 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (20 ml, 0,33 M) y piridina (1,06 ml, 13,1 mmol, 2 equiv.) se añadió gota a gota trifluoroacetato de pentafluorofenilo (2,25 ml, 13,1 mmol, 2 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante una hora.

En un segundo matraz que contenía **n.º 32** (360 mg, 0,59 mmol) en diclorometano (0,6 ml, 1 M) y piridina (0,095 ml, 1,2 mmol, 2 equiv.) se añadió gota a gota trifluoroacetato de pentafluorofenilo (0,203 ml, 1,18 mmol). Esta mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos.

- Las dos mezclas de reacción se combinaron, se lavaron dos veces con ácido clorhídrico acuoso 1 N, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El aceite de color amarillo resultante se disolvió en acetato de etilo, se preadsorbió sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 40 % de acetato de etilo en heptano) para dar **n.º 104** (4,6 g, 83 %) en forma de una espuma de color blanco que contenía algunas impurezas. CL-EM: m/z 798,3 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,23 minutos.
- 5** *Etapa 2.* Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 105**). A una mezcla de **n.º 104** (2,00 g, <2,58 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (6 ml, 0,4 M) se añadió una solución de **n.º 103** (483 mg, 2,16 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (2 ml), seguido de diisopropiletilamina (1,35 ml, 7,73 mmol, 3 equiv.). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas, después se adsorbió sobre sílice y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 20 % de metanol en diclorometano) para dar **n.º 105** (1,67 g, 83 %) en forma de una espuma de color blanco. Las fracciones que contenían el producto deseado con impurezas (0,571 g) se recogieron por separado.
- 10** La reacción y la purificación anteriores se repitieron de una manera similar usando **n.º 104** (2,60 g, <3,35 mmol, 1 equiv.), **n.º 103** (750 mg, 3,35 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml, 0,3 M) y diisopropiletilamina (1,35 ml, 7,73 mmol, 2,3 equiv.) para dar **n.º 105** (2,4 g, 92 %) en forma de una espuma de color castaño. Las fracciones que contenían producto impuro (1,7 g) con las fracciones impuras previas y se purificaron como se ha descrito anteriormente para proporcionar más cantidad de **n.º 105** (1,30 g, rendimiento cuantitativo para ambas reacciones en dos etapas). CL-EM: m/z 779,3 [M+H⁺], 802,3 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,05 minutos.
- 15** *Etapa 3.* Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1-(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)-2-metoxi-2-oxoetil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 106**). A una mezcla de **n.º 105** (225 mg, 0,289 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (15 ml, 0,02 M) y *N,N*-dimetilformamida (1 ml) se añadió HATU (136 mg, 0,347 mmol, 1,2 equiv.). Después de cinco minutos, se añadió una solución de la amina **n.º 102** (72,4 mg, 0,318 mmol, 1 equiv.) y diisopropilamina (203 µl, 1,16 mmol, 3 equiv.) en diclorometano (5 ml). Después de 24 horas, la mezcla de reacción se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío sobre gel de sílice, y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 50 % de acetona en heptano) para dar el enantiómero individual **n.º 106** (210 mg, 76 %) en forma de un aceite transparente. CL-EM: m/z 953,1 [M+H⁺], tiempo de retención = 3,99 minutos; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: 7,76 (d, J = 7,5 Hz, 2H), 7,57-7,64 (m, 2H), 7,40 (dd, J = 7,5, 7,4 Hz, 2H), 7,28-7,34 (m, 2H), 4,82-4,88 (m, 1H), 3,95-4,01 (m, 1H), 3,76 y 3,82 (2 s, total 3H), 3,30, 3,31, 3,34 y 3,35 (4 s, total 6H), [1,20 (d, J = 7,0 Hz) y 1,20 (d, J = 7,0 Hz), total 3H].
- 20** *Etapa 4A.* Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1-(biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il)-2-metoxi-2-oxoetil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 107**). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de **n.º 106** (25 mg, 0,026 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (10 ml, 0,003 M) y dietilamina (4 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para dar el enantiómero individual **n.º 107** (16 mg, 73 %) en forma de un sólido. CL-EM: m/z 730,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,13 minutos; HPLC (Protocolo N): tiempo de retención = 9,889 minutos.
- 25** *Etapa 4B.* Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[[biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il(carboxi)metil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 108**). El enantiómero individual **n.º 108** (94,5 mg, 57 %) se sintetizó a partir de **n.º 106** (190 mg, 0,200 mmol) de acuerdo con un procedimiento similar al descrito para la síntesis de **n.º 41** a partir de **n.º 40**. CL-EM: m/z 716,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,06 minutos; HPLC (Protocolo N): tiempo de retención = 9,137 minutos.
- 30**
- 35**
- 40**
- 45**

Preparación de 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 112)



5 **Etapa 1.** Síntesis de (2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (n.º 109). A una solución de n.º 11 (2,00 g, 6,96 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (21 ml, 0,3 M) y *N,N*-dimetilformamida (3 ml) se añadió HATU (3270 mg, 8,35 mmol, 1,2 equiv.). Después de dos minutos, se añadieron la amina (1*R*,2*S*)-(+)-norefedrina (1,07 mg, 6,96 mmol, 1 equiv.) y trietilamina (1,94 ml, 13,9 mmol, 2 equiv.). Después de dos horas, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (100 ml), se lavó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico y con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró, se concentró al vacío, y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 60 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar n.º 109 (2,18 g, 74 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM: *m/z* 321,3 [(M - Boc)+H⁺], tiempo de retención = 3,14 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,64 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,24-7,33 (m, 4H), 7,15-7,21 (m, 1H), 5,35 (d a, *J* = 5 Hz, 1H), 4,45 (dd a, *J* = 5, 5 Hz, 1H), 3,91-4,00 (m, 1H), 3,30-3,39 (m, 1H), 3,26 (s, 3H), 2,94-3,07 (m, 1H), 2,04-2,14 (m, 1H), 1,46-1,78 (m, 4H), 1,40 (s, 9H), 0,97-1,04 (m, 6H).

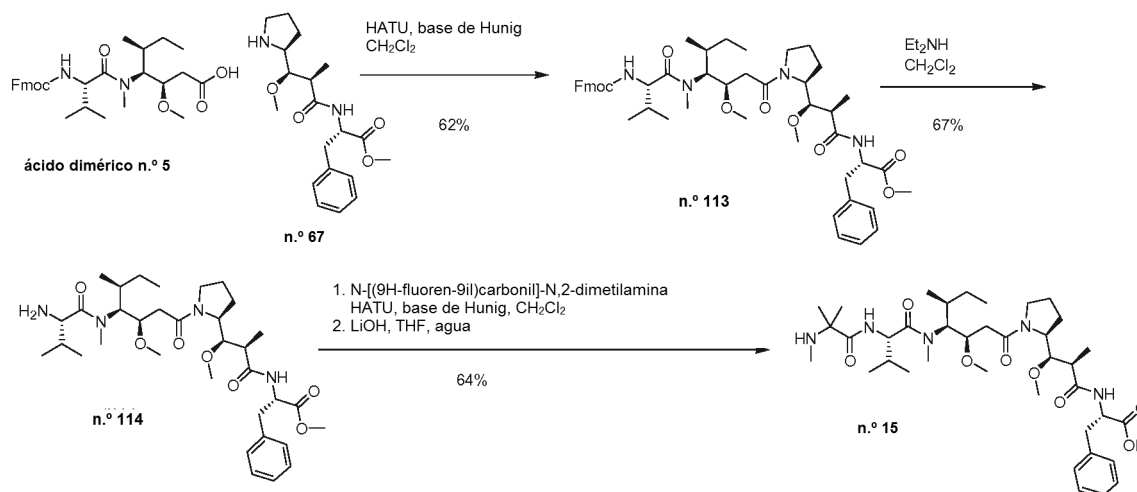
10 **Etapa 2.** Síntesis de (2*R*,3*R*)-*N*-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]-3-metoxi-2-metil-3-[(2*S*)-pirrolidin-2-il]propanamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 110). De acuerdo con procedimiento general C, a 0 °C a partir de n.º 109 (414 mg, 0,984 mmol, 1 equiv.), dioxano (5 ml, 0,2 M) y una solución 4 M de cloruro de hidrógeno en dioxano (15 ml, 60 mmol, 60 equiv.) se sintetizó el compuesto en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento C) para dar n.º 110 (120 mg, 34 %) en forma de un líquido viscoso. CL-EM: *m/z* 321,1 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,55 minutos; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), señales características: δ 7,90 (d, *J* = 8,6 Hz, 1H), 7,28-7,36 (m, 4H), 7,20-7,27 (m, 1H), 4,46 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H), 3,48 (dd, *J* = 8,6, 2,3 Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,92-3,16 (m, 3H), 2,24-2,35 (m, 1H), 1,49-1,88 (m, 4H), 1,09 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H), 1,01 (d, *J* = 6,6 Hz, 3H).

15 **Etapa 3.** Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 111). De acuerdo con procedimiento general D, a partir de n.º 32 (140 mg, 0,230 mmol, 1 equiv.), n.º 110 (110 mg, 0,253 mmol, 1,1 equiv.), diclorometano (3 ml, 0,08 M), *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml), HATU (96,2 mg, 0,253 mmol, 1,1 equiv.) y trietilamina (96 µl, 0,69 mmol, 3 equiv.) se sintetizó el producto en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 40 % de acetona en heptano) para dar n.º 111 (220 mg, 95 %). CL-EM: *m/z* 912,4 [M+H⁺], 935,4 [M+Na⁺], tiempo de retención = 2,15 minutos; HPLC (Protocolo B): *m/z* 912,5 [M+H⁺], 934,5 [M+Na⁺], tiempo de retención = 10,138 minutos (pureza >94 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ 7,89 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,66-7,75 (m, 2H), 7,41 (dd, *J* = 7,4, 7,4 Hz, 2H), 7,12-7,20 (m, 1H), [5,33 (d, *J* = 4,7 Hz) y 5,38 (d, *J* = 4,7 Hz), total 1H], 3,15, 3,18, 3,22 y 3,23 (4 s, total 6H), 1,30, 1,33, 1,36 y 1,39 (4 s, total 6H), 0,95-1,06 (m, 6H).

20 **Etapa 4.** Síntesis de 2-metilalanil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 112). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 111 (210 mg, 0,230 mmol) en diclorometano (5 ml, 0,05 M) y dietilamina (5 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 10 % de metanol en diclorometano) para dar una mezcla de un aceite y un sólido. Se añadieron éter dietílico y heptano y la mezcla se concentró al vacío, produciendo n.º 112 (81 mg, 51 %) en forma de un sólido

de color blanco. CL-EM: m/z 690,4 $[M+H^+]$, tiempo de retención = 1,10 minutos; HPLC (Protocolo A): m/z 690,5 $[M+H^+]$, 712,4 $[M+Na^+]$, tiempo de retención = 7,229 minutos (pureza > 90 %); RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6), presuntamente una mezcla de rotámeros, señales características: δ [7,62 (d a, $J = 8$ Hz), 7,88 (d a, $J = 8$ Hz), 8,07 (d a, $J = 9$ Hz) y 8,11 (d a, $J = 9$ Hz), total 2H], 7,15-7,34 (m, 5H), [5,34 (d, $J = 4$ Hz) y 5,41 (d, $J = 5$ Hz), total 1H], 3,18, 3,21, 3,23 y 3,25 (4 s, total 6H), 2,93 y 3,08 (2 s a, total 3H), 1,15, 1,18, 1,21 y 1,25 (4 s, total 6H).

Preparación de N,2-dimetilalanil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-carboxi-2-feniletíl)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (115).



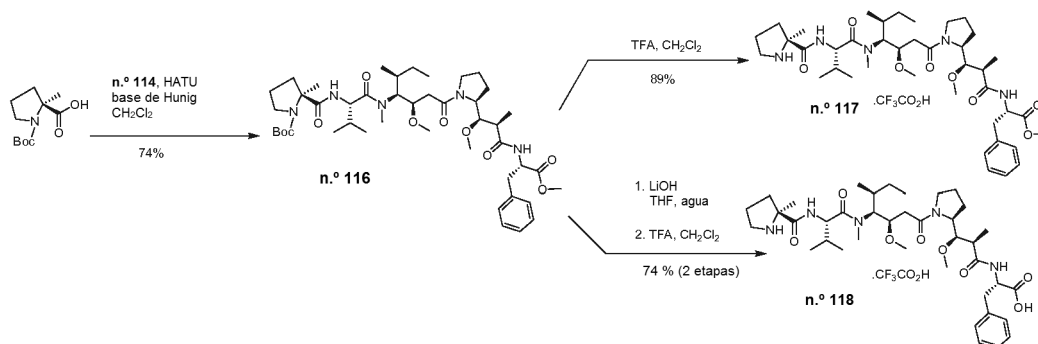
10 **Etapa 1.** Síntesis de N-((2R,3R)-3-((2S)-1-((3R,4S,5S)-4-[[N-((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil]-L-valil](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil)pirrolidin-2-il)-3-metoxi-2-metilpropanoil)-L-fenilalaninato de metilo (n.º 113). A una mezcla en agitación del dímero del ácido n.º 5 (12,1 g, 23,0 mM) y n.º 67 (11,5 g, 23,0 mM) en 75 ml de diclorometano en una atmósfera de nitrógeno, se añadió HATU (10,8 g, 27,6 mM) seguido de base de Hunig (12,1 ml, 69,0 mM). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 15 horas. La reacción se concentró a un volumen menor, se recogió con acetato de etilo y se lavó dos veces con HCl 1 N. Después, la fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. Después, el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 70 % de acetona en heptanos), produciendo n.º 113 (12,3 g, 62 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 855,3 $[M+H^+]$, 877,2 $[M+Na^+]$, tiempo de retención = 2,32 minutos; HPLC (Protocolo R): m/z 855,5 $[M+H^+]$, tiempo de retención = 9,596 minutos (pureza > 97 %).

15 **Etapa 2.** Síntesis de N-((2R,3R)-3-metoxi-3-((2S)-1-((3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoil)pirrolidin-2-il)-2-metilpropanoil)-L-fenilalaninato de metilo (n.º 114). De acuerdo con procedimiento general A, a partir de n.º 113 (12 g, 14 mmol, 1 equiv.), diclorometano (60 ml, 0,24 M) y dietilamina (40 ml, 390 mM) se sintetizó n.º 114 (5,9 g, 67 %), sólido de color blanco/amarillo claro, después de la purificación por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 % a 25 % de metanol en diclorometano). CL-EM (Protocolo Q): m/z 633,0 $[M+H^+]$, tiempo de retención = 1,19 minutos. HPLC (Protocolo A): m/z 633,5 $[M+H^+]$, tiempo de retención = 7,142 minutos (pureza > 98 %).

20 **Etapa 3.** Síntesis de N,2-dimetilalanil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-carboxi-2-feniletíl) amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida-sal de ácido trifluoroacético (n.º 115). A una mezcla en agitación de N-((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonil-N,2-dimetilalanina (167 mg, 0,493 mM), n.º 114 (260 mg, 0,411 mM) y HATU (188 mg, 0,493 mM) en 10 ml de diclorometano, se añadió base de Hunig (0,14 ml, 0,82 mM). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora y 20 minutos. La reacción se redujo. Se añadió THF (9 ml) a un material en bruto y a esta mezcla en agitación se añadió hidróxido de litio (49,2 mg, 2,06 mM) disuelto en 3 ml de agua. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se concentró, seguido de purificación por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 5 % a 45 % de agua en acetonitrilo con TFA al 0,02 % en cada fase) para dar n.º 115 (218 mg, 64 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 718,7 $[M+H^+]$, 740,6 $[M+Na^+]$, tiempo de retención = 1,21 minutos. HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 718,4 $[M+H^+]$, tiempo de retención = 6,903 minutos. RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ 8,81-8,95 (m), 8,44-8,50 (m), 8,42 (d), 8,15 (d), 7,14-7,28 (m), 4,71-4,78 (m), 4,57-4,66 (m), 4,49-4,56 (m), 4,41-4,48 (m), 3,94-4,05 (m), 3,72-3,79 (m), 3,39-3,60 (m), 2,95-3,33 (m), 2,78-2,89 (m), 2,69 (s), 2,43-2,50 (m), 2,08-2,42 (m), 1,60-1,92 (m), 1,20-1,57 (m), 0,84-1,11 (m), 0,74-0,83 (m).

Preparación de 2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{2S}-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3 oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 117) y 2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-{2S}-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil] amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil] pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 118).

5



Etapa 1. Síntesis de 1-(*tert*-butoxicarbonil)-2-metil-L-prolil-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida (**n.º 116**). A una solución en agitación de **n.º 114** (1,02 g, 1,61 mmol, 1,0 equiv.) y 1-(*tert*-butoxicarbonil)-2-metil-L-prolina (443 mg, 1,93 mmol, 1,2 equiv.) en 12 ml de diclorometano, se añadió HATU (735 mg, 1,93 mmol, 1,2 equiv.), seguido de base de Hunig (1,12 ml, 6,45 mmol, 4,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se redujo, se diluyó con acetato de etilo antes de lavarse con HCl 0,5 N y salmuera. Después, los materiales orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se redujeron a un volumen menor y después se redujeron sobre sílice. Después, se realizó cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-45 % de acetona en heptanos) produciendo **n.º 116** (1,02 g, 74 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 844,3 [M+H⁺], 867,2 [M+Na⁺], tiempo de retención = 2,15 minutos.

10

15

Etapa 2A. Síntesis de 2-metil-L-prolil-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil] amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 117**). A una solución en agitación de **n.º 116** (450 mg, 0,533 mmol, 1,0 equiv.) en 7 ml de diclorometano a 0 °C, se añadió TFA (3 ml, 40 mmol, 70 equiv.). La reacción se dejó en agitación a 0 °C durante 5 minutos y después se dejó calentar a temperatura ambiente mientras se agitaba durante 20 minutos. La reacción se redujo, se diluyó con diclorometano y una pequeña cantidad de metanol antes de reducirse sobre sílice. Después, se realizó cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-20 % de metanol en acetato de etilo) produciendo **n.º 117** (396 mg, 89 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 744,5 [M+H⁺], 767,2 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,40 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): *m/z* 744,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,149 minutos (pureza > 91 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 8,73-9,14 (m), 8,66 (d a), 8,50 (d), 8,22 (d), 7,12-7,25 (m), 4,67-4,74 (m), 4,41-4,63 (m), 3,93-4,00 (m), 3,73 (dd), 3,63 (d), 3,46-3,57 (m), 3,38-3,45 (m), 3,26-3,23 (m), 3,22-3,25 (m), 3,06-3,22 (m), 2,99-3,05 (m), 2,93-2,97 (m), 2,80-2,89 (m), 2,75-2,78 (m), 2,64-2,67 (m), 2,46-2,50 (m), 2,27-2,43 (m), 2,00-2,26 (m), 1,85-1,99 (m), 1,70-1,83 (m), 1,52-1,69 (m), 1,33-1,51 (m), 1,18-1,31 (m), 0,98-1,07 (m), 0,93-0,97 (m), 0,82-0,92 (m), 0,71-0,78 (m).

20

25

30

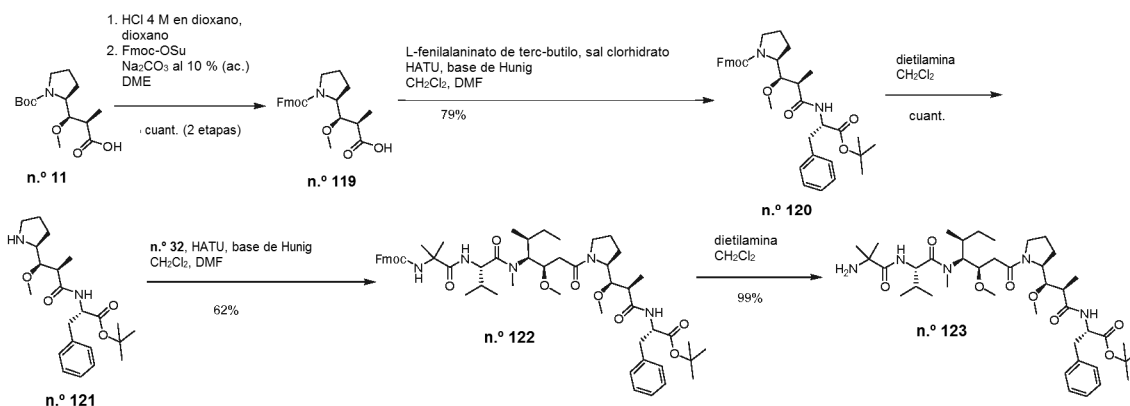
Etapa 2B. Síntesis de 2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-{2S}-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 118**). A una solución en agitación de **n.º 116** (435 mg, 0,515 mmol), en 4 ml de THF en una atmósfera de nitrógeno, se añadió LiOH (24,7 mg, 1,03 mmol, 2,0 equiv.) disuelto en 2 ml de agua. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente hasta que la CL-EM indicó la saponificación del éster metílico. La reacción se concentró al vacío y después se puso al vacío. La reacción se diluyó con diclorometano y se puso en una atmósfera de nitrógeno. A esta mezcla en agitación se añadió TFA (3 ml, 40,5 mmol, 80 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos. Después, la reacción se redujo. El residuo se purificó por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 5 % a 60 % de acetonitrilo en agua con TFA al 0,02 % en cada fase) para dar **n.º 118** (396 mg, 89 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 730,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,18 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): *m/z* 730,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,088 minutos (pureza > 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 9,04-9,13 (m), 8,75-8,87 (m), 8,70 (d), 8,38 (d), 8,11 (d), 7,10-7,24 (m), 4,66-4,74 (m), 4,48-4,64 (m), 4,37-4,47 (m), 3,91-3,99 (m), 3,77 (m), 3,47-3,56 (m), 3,33-3,47 (m), 3,08-3,30 (m), 2,93-3,07 (m), 2,75-2,86 (m), 2,63-2,69 (m), 2,45-2,50 (m), 2,28-2,44 (m), 2,03-2,27 (m), 1,88-2,02 (m), 1,68-1,86 (m), 1,55-1,67 (m), 1,30-1,47 (m), 1,17-1,29 (m), 0,98-1,05 (m), 0,93-0,97 (m), 0,83-0,92 (m), 0,71-0,79 (m).

35

40

45

Preparación de 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 123).



5 **Etapa 1.** Síntesis de ácido (2R,3R)-3-[(2S)-1-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoico (**n.º 119**). A una solución en agitación de **n.º 11** (2,4 g, 8,4 mmol, 1,0 equiv.) en 10 ml de dioxano en una atmósfera de nitrógeno, se añadió HCl 4 M en dioxano (20 ml, 80 mM, 10 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas antes de concentrarse al vacío y de ponerse a alto vacío. Después, el material en bruto se disolvió con 30 ml de Na₂CO₃ al 10 %. Después, esta solución se añadió a una solución en agitación de 1-[[[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]oxi]pirrolidin-2,5-diona (2,96 g, 8,77 mmol, 1,05 equiv.) en 30 ml de DME. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente hasta que la TLC (20 % de metanol/40 % de acetato de etilo/40 % de heptanos) indicó el consumo del material de partida desprotegido de Boc. La reacción se concentró al vacío a un volumen menor, se lavó dos veces con éter, se acidificó a pH 2 usando HCl concentrado y después se extrajo tres veces con una solución de diclorometano al 90 % y metanol al 10 %. Los materiales orgánicos se lavaron con bicarbonato sódico saturado y salmuera antes de secarse sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío hasta un sólido de color pardo **n.º 119** (3,4 g, cuant.). CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 410,0 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,81 minutos.

10 **Etapa 2.** Síntesis de N-[(2R,3R)-3-[(2S)-1-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de *tert*-butilo (**n.º 120**). A una solución en agitación de L-fenilalaninato de *tert*-butilo, sal clorhidrato (1,67 g, 6,5 mmol, 1,0 equiv.) y **n.º 119** (5,9 g, 6,5 mmol, 1,0 equiv.) en 50 ml de diclorometano y 5 ml de DMF, se añadió HATU (2,9 g, 7,9 mmol, 1,2 equiv.), seguido de base de Hunig (5,6 ml, 32 mmol, 5,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 45 minutos. La reacción se redujo, se diluyó con acetato de etilo, se lavó con HCl 0,5 N y salmuera antes de concentrarse sobre sílice. Después, se realizó cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-25 % de acetona en heptano) produciendo **n.º 120** (3,14 g, 79 %) en forma de un sólido de color blanco amarillito. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 613,1 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,37 minutos.

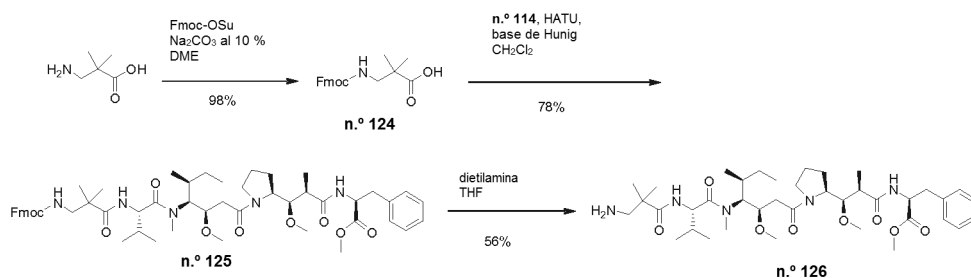
15 **Etapa 3.** Síntesis de N-[(2R,3R)-3-metoxi-2-metil-3-[(2S)-pirrolidin-2-il]propanoil]-L-fenilalaninato de *tert*-butilo (**n.º 121**). A una solución en agitación de **n.º 120** (2,87 g, 4,68 mmol, 1,00 equiv.) en 20 ml de diclorometano, se añadió dietilamina (10 ml, 95 mM, 20,5 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Se añadió más dietilamina (10 ml, 95 mmol, 20,5 equiv.) y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas más. La reacción se concentró al vacío y se puso a alto vacío, produciendo **n.º 121** (1,8 g, cuant.) en forma de una mezcla de sólido y aceite de color amarillo blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 391,1 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,05 minutos.

20 **Etapa 4.** Síntesis de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**n.º 122**). A una solución en agitación de **n.º 121** (0,55 g, 1,0 mmol, 1,0 equiv.) en 10 ml de diclorometano y 1 ml de DMF, se añadió **n.º 32** (0,62 g, 1,0 mmol, 1,0 equiv.), seguido de HATU (0,42 g, 1,1 mmol, 1,1 equiv.) y base de Hunig (0,72 ml, 4,1 mmol, 4,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante aproximadamente 21 horas. La reacción se redujo, se diluyó con acetato de etilo y después se lavó con HCl 0,5 N y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a un volumen menor antes de concentrarse sobre sílice. Después, se realizó cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-40 % de acetona en heptano) produciendo **n.º 122** (0,62 g, 62 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 982,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,44 minutos.

25 **Etapa 5.** Síntesis de 2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**n.º 123**). A una mezcla en agitación de **n.º 122** (600 mg, 0,611 mmol, 1,00 equiv.) en 15 ml de diclorometano, se añadió dietilamina (5 ml, 50 mmol, 80 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se concentró al vacío y la mezcla se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-40 % de metanol

en diclorometano) produciendo **n.º 123** (0,46 g, 99 %) en forma de un sólido. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 760,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,83 minutos. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD), δ 7,14-7,30 (m), 4,70-4,78 (m), 4,56-4,64 (m), 4,05-4,19 (m), 3,87 (dd), 3,79-3,84 (m), 3,72-3,77 (m), 3,62-3,70 (m), 3,46-3,56 (m), 3,37-3,45 (m), 3,33-3,36 (m), 3,16-3,24 (m), 3,09-3,11 (m), 2,98-3,05 (m), 2,95 (d), 2,91 (d), 2,87 (d), 2,83 (d), 2,73-2,79 (m), 2,40-2,51 (m), 2,29-2,39 (m), 2,16-2,28 (m), 2,04-2,15 (m), 2,01 (s), 1,73-1,96 (m), 1,50-1,68 (m), 1,47-1,49 (m), 1,46 (s), 1,43 (s), 1,38 (s), 1,35 (d), 1,23-1,32 (m), 1,17-1,22 (m), 1,15 (d), 1,04-1,11 (m), 0,94-1,03 (m), 0,82-0,91 (m).

Preparación de Ejemplo de Referencia de N-[(2R,3R)-3-((2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-(3-amino-2,2-dimetilpropanoil)-L-valil]](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo (n.º 126).

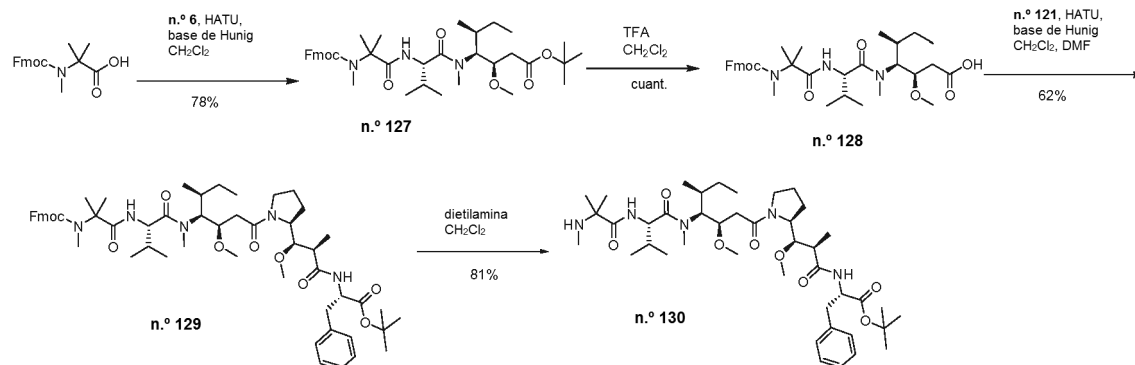


Etapa 1. Síntesis de ácido 3-[[[9H-fluoren-9-ilmetoxi]carbonil]amino]-2,2-dimetilpropanoico (**n.º 124**). Una solución de clorhidrato del ácido 3-amino-2,2-dimetilpropanoico (1,0 g, 6,5 mmol, 1,0 equiv.) en 10 ml de Na₂CO₃ al 10 % se añadió a una solución de 1-[[[9H-fluoren-9-ilmetoxi]oxi]pirrolidin-2,5-diona (2,3 g, 6,5 mmol, 1,0 equiv.) en 10 ml de DME. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró a un volumen menor y después se lavó dos veces con éter. La fase acuosa se acidificó a pH <2 con HCl concentrado y después se extrajo tres veces con una solución de metanol al 10 % y diclorometano al 90 %. Los materiales orgánicos se combinaron antes de lavarse con HCl 1 M y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío, produciendo **n.º 124** (2,2 g, 98 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 362,0 [M+Na⁺]; tiempo de retención = 0,89 minutos.

Etapa 2. Síntesis de N-[(2R,3R)-3-((2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-(3-[[[9H-fluoren-9-ilmetoxi]carbonil]amino)-2,2-dimetilpropanoil]-L-valil]](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo (**n.º 125**). A una solución en agitación de **n.º 114** (200 mg, 0,316 mmol, 1,00 equiv.) en 2 ml de diclorometano, se añadió **n.º 124** (107 mg, 0,316 mmol, 1,00 equiv.), seguido de base de Hunig (0,167 ml, 0,948 mmol, 3,00 equiv.) y HATU (149 mg, 0,379 mmol, 1,20 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. La reacción se concentró a un volumen menor, se recogió en 10 ml de acetato de etilo y se lavó dos veces con 5 ml de HCl 1 M y una vez con 5 ml de salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se decantó. Los materiales orgánicos se concentraron al vacío y el material en bruto se recogió en diclorometano. El precipitado se filtró. La fase orgánica se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-50 % de acetona en heptano) produciendo **n.º 125** (235 mg, 78 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 954,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,28 minutos.

Etapa 3. Síntesis de N-[(2R,3R)-3-((2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-(3-amino-2,2-dimetilpropanoil)-L-valil]](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo (**n.º 126**). A una solución en agitación de **n.º 125** (235 mg, 0,246 mmol, 1,00 equiv.) en 2 ml de THF, se añadió dietilamina (1 ml, 10 mM, 40,6 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-30 % de metanol en acetato de etilo) produciendo **n.º 126** (101 mg, 56 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 732,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,32 minutos. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 8,51 (dd), 8,28 (d), 7,15-7,29 (m), 5,77 (s), 4,55-4,77 (m), 4,44-4,54 (m), 3,94-4,10 (m), 3,73-3,79 (m), 3,66 (d), 3,49-3,60 (m), 3,40-3,48 (m), 3,10-3,36 (m), 3,00-3,09 (m), 2,83-2,98 (m), 2,57-2,77 (m), 2,19-2,46 (m), 1,87-2,14 (m), 1,61-1,86 (m), 1,36-1,55 (m), 1,23-1,36 (m), 1,12-1,22 (m), 0,97-1,11 (m), 0,82-0,96 (m), 0,73-0,81 (m).

Preparación de N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 130).



5 **Etapa 1.** Síntesis de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-*tert*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 127). En un matraz de fondo redondo que contenía n.º 6 (4,7 g, 7,9 mmol, 1,0 equiv.) y N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N,2-dimetilalanina (3,2 g, 9,4 mmol, 1,2 equiv.) y una barra de agitación en una atmósfera de nitrógeno, se añadieron 50 ml de diclorometano, seguido de HATU (3,6 g, 9,4 mmol, 1,2 equiv.) y base de Hunig (5,5 ml, 32 mmol, 4,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. La reacción se redujo a un volumen menor, se recogió en acetato de etilo, antes de lavarse con HCl 1 N y salmuera. Después, los materiales orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y después se redujeron sobre sílice. El residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-30 % de acetona en heptano) produciendo n.º 127 (4,2 g, 78 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 680,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,52 minutos.

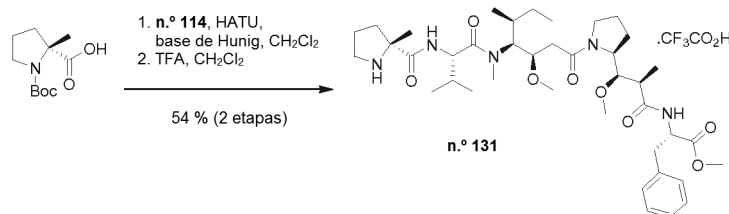
15 **Etapa 2.** Síntesis de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N,2-dimetilalanil-N-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-N-metil-L-valinamida, (n.º 128). A una solución en agitación de n.º 127 (4,2 g, 6,1 mmol, 1,0 equiv.) en 21 ml de diclorometano en una atmósfera de nitrógeno, se añadió TFA (7 ml, 90 mmol, 10 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~4 horas. La reacción se concentró al vacío, se destiló azeotrópicamente una vez con heptano y después se puso a alto vacío, produciendo n.º 128 en forma de un sólido de color blanco amarillo claro (3,8 g, cuant.). CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 624,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,01 minutos.

25 **Etapa 3.** Síntesis de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 129). A una solución en agitación de n.º 128 (1,67 g, 3,1 mmol, 1,0 equiv.) en 20 de diclorometano y 2 ml de DMF, se añadió n.º 121 (2,4 g, 3,1 mmol, 1,0 equiv.), seguido de HATU (1,29 g, 3,39 mmol, 1,1 equiv.) y después base de Hunig (2,2 ml, 12,3 mmol, 4,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~2 horas. La reacción se redujo, se diluyó con acetato de etilo antes de lavarse con HCl 0,5 N y salmuera. Los materiales orgánicos se secaron sobre sulfato sódico y después se redujeron sobre sílice. El residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-50 % de acetona en heptanos) produciendo n.º 129 (1,9 g, 62 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 996,3 [M+H⁺]; tiempo de retención = 2,53 minutos.

35 **Etapa 4.** Síntesis de N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-1-*tert*-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 130). A una solución en agitación de n.º 129 (823 mg, 0,826 mmol, 1,00 equiv.) en 15 ml de diclorometano, se añadió dietilamina (4 ml, 40 mmol, 50 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~14 ½ horas. La reacción se concentró al vacío y se destiló azeotrópicamente una vez con heptanos. El residuo se diluyó con diclorometano y una pequeña cantidad de metanol antes de reducirse sobre sílice. El residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-20 % de metanol en acetato de etilo) produciendo n.º 130 (518 mg, 81 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 774,3 [M+H⁺]; tiempo de retención = 1,48 minutos. HPLC (Protocolo A a 25 °C): *m/z* 774,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,733 minutos (pureza > 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 8,36 (d), 8,14 (d), 7,81 (t), 7,14-7,25 (m), 7,01-7,07 (m), 4,87-4,94 (m), 4,78-4,85 (m), 4,67-4,76 (m), 4,46-4,65 (m), 4,29-4,40 (m), 3,93-4,03 (m), 3,70-3,81 (m), 3,49-3,60 (m), 3,38-3,47 (m), 3,29-3,36 (m), 3,15-3,28 (m), 2,98-3,13 (m), 2,94 (s), 2,74-2,89 (m), 2,64-2,69 (m), 2,18-2,45 (m), 2,02-2,14 (m), 1,90-2,01 (m), 1,62-1,87 (m), 1,40-1,55 (m), 1,37 (d), 1,20-1,33 (m), 1,16 (d), 1,01-1,10 (m), 0,90-0,98 (m), 0,82 -0,89 (m), 0,69-0,79 (m).

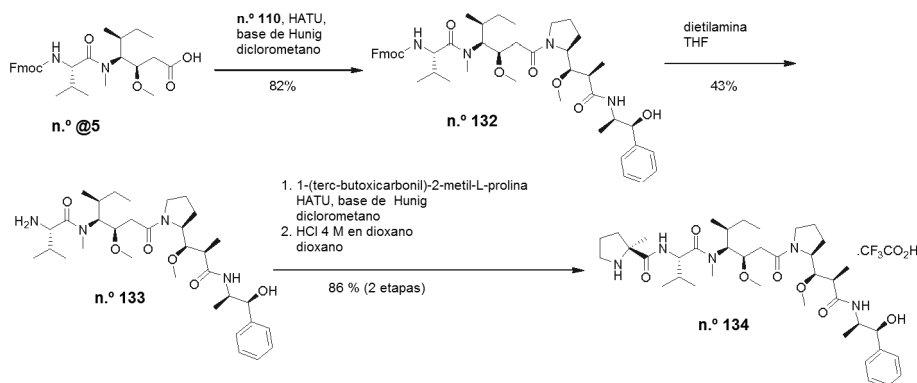
45

Preparación de 2-metil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 131).



- 5 **Etapa 1.** Síntesis de sal de ácido trifluoroacético de 2-metil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 131). A una solución en agitación de n.º 114 (164 mg, 0,259 mmol, 1,0 equiv.) y 1-(terc-butoxicarbonil)-2-metil-D-prolina (71,3 mg, 0,311 mmol, 1,2 equiv.) en 4 ml de diclorometano, se añadió HATU (118 mg, 0,311 mmol, 1,2 equiv.), seguido de base de Hunig (0,180 ml, 1,04 mmol, 4 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~30 minutos. La reacción se redujo. La reacción se recogió en 3,5 ml de diclorometano y se puso en una atmósfera de nitrógeno. A esta solución en agitación, se añadió TFA (1,5 ml, 20 mmol, 76 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~1 hora. La reacción se redujo y se puso a alto vacío. La purificación por (Procedimiento J*) proporcionó n.º 131 (119 mg, 54 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo A a 45 °C): *m/z* 744,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,342 minutos (pureza > 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 9,08-9,18 (m), 8,79-8,89 (m), 8,76 (t), 8,54 (d), 8,29 (d), 7,14-7,31 (m), 4,70-4,79 (m), 4,57-4,66 (m), 4,45-4,55 (m), 3,96-4,04 (m), 3,74-3,80, 3,66 (d), 3,48-3,61 (m), 3,40-3,48 (m), 3,09-3,34 (m), 3,00-3,09 (m), 2,95-3,00 (m), 2,83-2,93 (m), 2,36-2,53 (m), 2,21-2,35 (m), 2,10-2,19 (m), 1,99-2,10 (m), 1,61-1,09 (m), 1,36-1,53 (m), 1,21-1,35 (m), 1,02-1,10 (m), 0,94-1,0 (m), 0,86-0,93 (m), 0,73-0,82 (m).

Preparación de 2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 134).

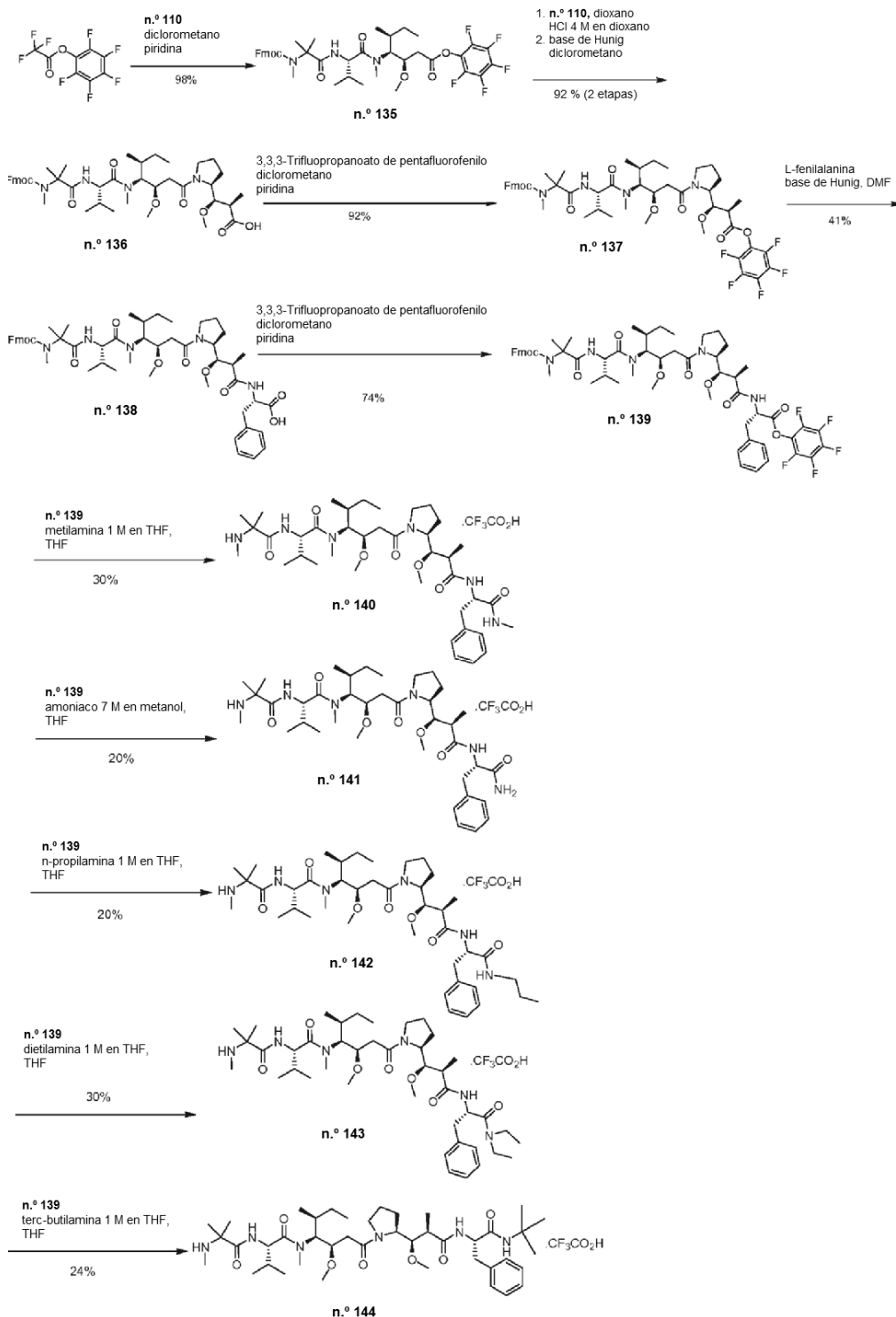


- 25 **Etapa 1.** Síntesis de N~2~[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 132). En un matraz que contenía n.º @5 (1,14 g, 2,17 mmol, 1,0 equiv.), se añadieron 10 ml de diclorometano, seguido de base de Hunig (1,15 ml, 6,52 mmol, 3,0 equiv.), HATU (1,02 g, 2,61 mmol, 1,2 equiv.) y n.º 110 (0,776 g, 2,17 mmol, 1,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se concentró al vacío. El material en bruto se recogió en 50 ml de acetato de etilo, se lavó dos veces con 25 ml de HCl 1 M y una vez con 25 ml de salmuera. Los materiales orgánicos se secaron sobre sulfato sódico y se decantaron. Los materiales orgánicos se concentraron al vacío, se recogieron en 30 ml de diclorometano y el precipitado resultante se retiró por filtración. Los materiales orgánicos se concentraron al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-50 % de acetona en heptanos) produciendo n.º 132 (1,33 g, 81 %) en forma de un sólido. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 849,2 [M+Na⁺]; tiempo de retención = 2,19 minutos.

- 35 **Etapa 2.** Síntesis de N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 133). A una solución en agitación de n.º 132 (1,33 g, 1,60 mmol, 1,0 equiv.) en 10 ml de THF se añadió dietilamina (5 ml, 50 mM, 31,3 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-30 % de metanol en acetato de etilo) produciendo n.º 133 (418 mg, 43 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 605,2 [M+H⁺]; tiempo de retención = 1,48 minutos.

5 *Etapa 3.* Síntesis de 2-metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*,2*R*)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il] amino
 10 }-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido
 trifluoroacético (n.º 134). Se combinaron HATU (151 mg, 0,398 mmol, 1,2 equiv.), n.º 133 (201 mg, 0,332 mmol, 1,0
 15 equiv.) y 1-(*terc*-butoxicarbonil)-2-metil-L-prolina (91,3 mg, 0,398 mM, 1,2 equiv.) en un matraz de fondo redondo que
 contenía una barra de agitación en una atmósfera de nitrógeno. Se añadieron 5 ml de diclorometano, seguido de
 base de Hunig (0,231 ml, 1,33 mmol, 4,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante
 ~15 horas. Después, la reacción se concentró al vacío y se puso a alto vacío. Después, se añadieron 4 ml de
 dioxano al residuo, seguido de HCl 4 M en dioxano (4 ml, 20 mmol, 50 equiv.). Después, la reacción se dejó en
 agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. Después, la reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó
 por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 5 % a 90 % de acetonitrilo en agua con TFA al
 0,02 % en cada fase) para dar n.º 134 (237 mg, 86 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q):
m/z 716,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,16 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): *m/z* 716,5 [M+H⁺], tiempo de
 retención = 6,930 minutos (pureza > 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), 9,12-9,21 (m), 8,79-8,90 (m), 8,70-8,78
 (m), 7,95 (d), 7,64 (d), 7,25-7,36 (m), 7,16-7,23 (m), 4,74-4,80 (m), 4,61-4,69 (m), 4,41-4,59 (m), 3,91-4,06 (m), 3,78
 (dd), 3,54-3,64 (m), 3,45-3,51 (m), 3,17-3,36 (m), 3,02-3,15 (m), 3,00 (s a), 2,40-2,48 (m), 2,24-2,35 (m), 1,91-2,21
 (m), 1,68-1,90 (m), 1,61-1,68 (m), 1,48-1,59 (m), 1,22-1,35 (m), 0,97-1,09 (m), 0,84-0,97 (m), 0,74-0,83 (m).

Preparación de N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-(metilamino)-2-
 20 oxoetil]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-
 L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 140), N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-2-
 amino-1-bencil-2-oxoetil]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-
 oxobutil}-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 141), N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-
 25 [(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-oxo-2-(propilamino)etil]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxo-propil]pirrolidin-1-il}-2-
 metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 142), N,2-
 dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-(dietilamino)-2-oxoetil]amino}-1-metoxi-2-metil-3-
 oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido
 trifluoroacético (n.º 143, y N,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-bencil-2-(*terc*-butilamino)-
 2-oxoetil]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-
 metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 144).



Etapa 1. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-1-oxo-1-(pentafluorofenoxi)heptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 135**). Se añadió 3,3,3-trifluoropropanoato de pentafluorofenilo (2,44 ml, 13,4 mmol, 2,0 equiv.) a una solución de **n.º 128** (4,18 g, 6,70 mmol, 1,0 equiv.) en 50 ml de diclorometano, seguido de piridina (1,61 ml, 20,1 mmol, 3,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-70 % de acetona en heptanos) produciendo **n.º 135** (5,2 g, 98 %) en forma de una espuma de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 812,1 [M+Na⁺]; tiempo de retención = 1,24 minutos.

5

Etapa 2. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 136**). A una solución en

10

agitación de HCl 4 M en dioxano (10 ml, 25 mmol, 3,7 equiv.) en 10 ml de dioxano se añadió **n.º 11** (2,31 g, 8,05 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 6 horas. La reacción se concentró al vacío produciendo una goma de color amarillo. Una solución de **n.º 135** (5,3 g, 6,7 mmol, 1,0 equiv.) en 30 ml de diclorometano se añadió al residuo previo, seguido de base de Hunig (3,5 ml, 20 mmol, 3 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se diluyó con diclorometano antes de lavarse con una solución acuosa al 1 % de HCl y después salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 20 %-50 % de acetato de etilo en heptanos, seguido de 93 % de acetato de etilo y 6,6 % de metanol y 0,4 % de ácido acético) produciendo **n.º 136** (4,87 g, 92 %) en forma de un sólido de color blanquecino. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 793,3 [M+H⁺]; tiempo de retención = 1,07 minutos.

Etapa 3. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(pentafluorofenoxi)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 137**). Se añadió 3,3,3-trifluoropropanoato de pentafluorofenilo (1,3 ml, 7,1 mmol, 2,0 equiv.) a una solución de **n.º 136** (2,8 g, 3,5 mmol, 1,0 equiv.) en 30 ml de diclorometano, seguido de la adición de piridina (0,85 ml, 10,6 mM). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se concentró al vacío, y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-70 % de acetona en heptano) produciendo **n.º 137** (3,1 g, 92 %) en forma de un polvo de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 959,2 [M+H⁺]; tiempo de retención = 1,28 minutos.

Etapa 4. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 138**). A una solución en agitación de **n.º 137** (493 mg, 0,514 mmol, 1,0 equiv.) en 4 ml de DMF, se añadió L-fenilalanina (84,9 mg, 0,514 mmol, 1,0 equiv.), seguido de base de Hunig (0,27 ml, 1,54 mmol, 3,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-100 % de acetato de etilo en heptano) produciendo **n.º 138** (200 mg, 41 %) en forma de una espuma de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 940,3 [M+H⁺]; tiempo de retención = 1,08 minutos.

Etapa 5. Síntesis de *N*-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2S)-1-oxo-1-(pentafluorofenoxi)-3-fenilpropan-2-il]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 139**). A una solución en agitación de **n.º 138** (200 mg, 0,213 mmol, 1,0 equiv.) en 5 ml de diclorometano, se añadió 3,3,3-trifluoropropanoato de pentafluorofenilo (126 mg, 0,426 mmol, 2,0 equiv.), seguido de piridina (0,051 ml, 0,64 mmol, 3,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía de sílice (Gradiente: 0 %-100 % de acetato de etilo en heptanos) produciendo **n.º 139** (174 mg, 74 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1128 [M+Na⁺]; tiempo de retención = 1,23 minutos.

Etapa 6A. Síntesis de *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-bencil-2-(metilamino)-2-oxoetil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 140**). A una solución agitada de **n.º 139** (20 mg, 0,018 mmol, 1,0 equiv.) en 1 ml de THF se añadió metilamina (1 M en THF, 0,18 ml, 0,18 mmol, 10 equiv.) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se redujo y se diluyó con DMSO y se sometió a purificación (Procedimiento J*). Las fracciones se recogieron y se concentraron al vacío para dar **n.º 140** (4,0 mg, 30 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 731,2 [M+H⁺]; tiempo de retención = 0,70 minutos. RMN ¹H (400 MHz, metanol-d₄), 7,30-7,41 (m), 4,71-4,78 (m), 4,58-4,69 (m), 4,04-4,15 (m), 3,86-3,98 (m), 3,73-3,78 (m), 3,61-3,70 (m), 3,50-3,58 (m), 3,32-3,47 (m), 3,23-3,26 (m), 3,17-3,22 (m), 3,07-3,15 (m), 2,95-2,98 (m), 2,76-2,91 (m), 2,68-2,75 (m), 2,63-2,66 (m), 2,43-2,51 (m), 2,22-2,28 (m), 1,99-2,11 (m), 1,74-1,96 (m), 1,21-1,31 (m), 1,17-1,20 (m), 0,92-1,10 (m), 0,79-0,89 (m).

Etapa 6B. Síntesis de *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-2-amino-1-bencil-2-oxoetil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 141**). Siguiendo el mismo procedimiento que para el **n.º 140** usando **n.º 139** (20 mg, 0,018 mmol, 1,0 equiv.), una solución de amoniaco (7 M en metanol, 0,026 ml, 0,18 mmol, 10 equiv.) y purificación (Procedimiento J*), se obtuvo **n.º 141** (3,0 mg, 20 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 717,2 [M+H⁺]; tiempo de retención = 0,79 minutos. RMN ¹H (400 MHz, metanol-d₄), 7,22-7,30 (m), 7,14-7,21 (m), 4,57-4,480 (m), 4,02-4,17 (m), 3,92-3,98 (m), 3,84-3,91 (m), 3,32-3,74 (m), 3,17-3,27 (m), 3,06-3,14 (m), 2,77-3,05 (m), 2,65 (s), 2,43-2,51 (m), 2,21-2,26 (m), 1,98-2,13 (m), 1,70-1,94 (m), 1,32-1,69 (m), 1,16-1,31 (m), 0,89-1,13 (m), 0,80-0,88 (m).

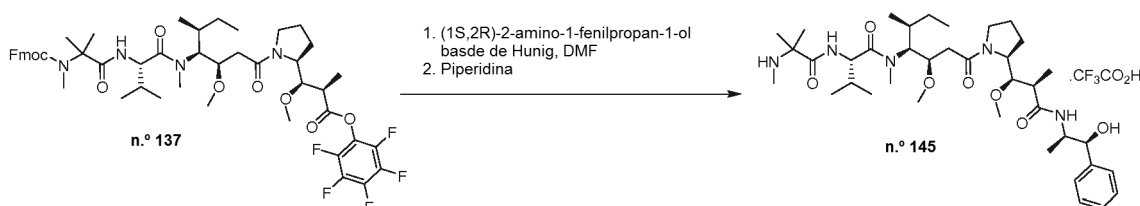
Etapa 6C. Síntesis de *N*,2-dimetilalanil-*N*-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-bencil-2-oxo-2-(propilamino)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 142**). Siguiendo el mismo procedimiento que para el **n.º 140** usando **n.º 139** (20 mg, 0,018 mmol, 1,0 equiv.), n-propilamina (1 M en THF, 0,18 ml, 0,18 mmol, 10 equiv.) y purificación (Procedimiento J*), se obtuvo **n.º 142** (3,0 mg, 20 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 759,2 [M+H⁺]; tiempo de retención = 0,74 minutos. RMN ¹H (400 MHz, metanol-d₄), 7,15-7,29 (m), 4,71-4,79 (m), 4,52-4,68 (m), 4,04-4,17 (m), 3,87-3,99 (m), 3,73-3,99 (m), 3,73-3,79 (m), 3,50-3,70 (m), 3,34-3,49 (m), 3,06-3,23

(m), 2,79-2,99 (m), 2,44-2,50 (m), 2,28-2,43 (m), 2,22-2,27 (m), 1,75-2,10 (m), 1,34-1,61 (m), 1,16-1,29 (m), 0,92-1,10 (m), 0,77-0,89 (m).

5 **Etapa 6D.** Síntesis de N,2-dimetilalanil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-(dietilamino)-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 143). Siguiendo el mismo procedimiento que para el n.º 140 usando n.º 139 (20 mg, 0,018 mmol, 1,0 equiv.) dietilamina (1 M en THF, 0,18 ml, 0,18 mmol, 10 equiv.) y purificación (Procedimiento J*), se obtuvo n.º 143 (4,0 mg, 30 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 773,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,77 minutos. RMN ¹H (400 MHz, metanol-*d*₄), 7,16-7,33 (m), 5,10-5,17 (m), 4,96-5,07 (m), 4,68-4,75 (m), 4,60-4,65 (m), 3,61-4,23 (m), 3,35-3,67 (m), 3,16-3,26 (m), 2,99-3,15 (m), 2,78-2,94 (m), 2,30-2,52 (m), 2,19-2,28 (m), 1,73-2,13 (m), 1,83-1,45 (m), 1,19-1,31 (m), 0,92-1,18 (m), 0,80-0,89 (m).

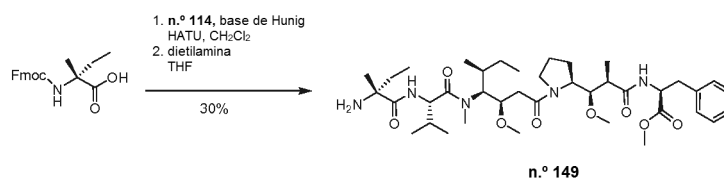
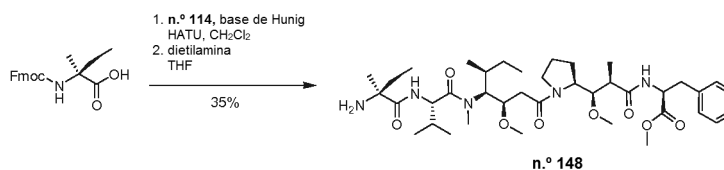
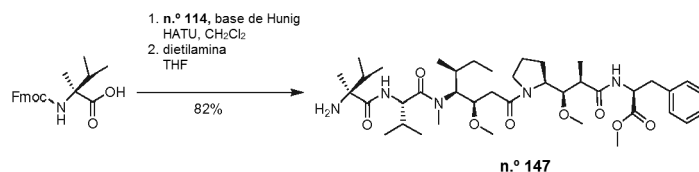
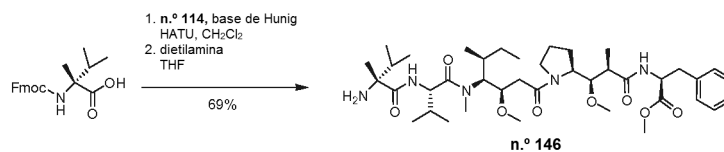
15 **Etapa 6E.** Síntesis de N,2-dimetilalanil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-(*terc*-butilamino)-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético n.º 144. Siguiendo el mismo procedimiento que para el n.º 140 usando n.º 139 (20 mg, 0,018 mmol, 1,0 equiv.), *terc*-butilamina (1 M en THF, 0,18 ml, 0,18 mmol, 10 equiv.) y purificación (Procedimiento J*), se obtuvo n.º 144 (3,4 mg, 24 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 773,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,74 minutos. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8,21 (d), 8,03-7,98 (m), 7,92 (d), 7,81-7,62 (m), 7,46-7,16 (m), 4,83-4,69 (m), 4,68-4,56 (m), 4,21-4,07 (m), 3,92-3,86 (m), 3,83-3,80 (m), 3,74-3,65 (m), 3,60-3,48 (m), 3,47-3,36 (m), 3,28-3,13 (m), 3,11-3,01 (m), 2,96-2,82 (m), 2,69-2,62 (m), 2,54-2,43 (m), 2,38-2,12 (m), 2,00-1,76 (m), 1,69-1,161 (m), 1,60-1,53 (m), 1,52-0,98 (m), 0,94-0,86 (m).

20 **Preparación de N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 145).**



25 **Etapa 1.** Síntesis de N,2-dimetilalanil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1R,2S)-2-hidroxi-1-metil-2-feniletil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 145). A una solución en agitación de n.º 137 (300 mg, 0,313 mmol, 1,0 equiv.) en 3 ml de DMF, se añadió (1S,2R)-2-amino-1-fenilpropan-1-ol (54,8 mg, 0,344 mmol, 1,1 equiv.), seguido de base de Hunig (0,164 ml, 0,939 mmol, 3,0 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. Después, se añadió una solución al 20 % de piperidina en DMF (1 ml, 2,2 mmol, 7,0 equiv.) y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. La purificación (Procedimiento J, seguido de concentración de los tubos de ensayo adecuados) produjo n.º 145 (190 mg, 74 %) en forma de un polvo de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 704,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,67 minutos. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD), δ 7,97 (d), 7,73 (d), 7,37-7,41 (m), 7,27-7,36 (m), 7,19-7,25 (m), 4,70-4,75 (m), 4,58-4,63 (m), 4,49-4,54 (m), 4,14-4,30 (m), 4,04-4,11 (m), 3,87 (dd), 3,63-3,77 (m), 3,51-3,58 (m), 3,46-3,49 (m), 3,38-3,43 (m), 3,25-3,37 (m), 3,15-3,23 (m), 3,11-3,14 (m), 3,01-3,02 (m), 2,59-2,64 (m), 2,52-2,55 (m), 2,44-2,52 (m), 2,41-2,43 (m), 2,07-2,26 (m), 1,73-2,0 (m), 1,65-1,73 (m), 1,59-1,65 (m), 1,51-1,59 (m), 1,32-1,46 (m), 1,23-1,26 (m), 1,08-1,21 (m), 0,94-1,07 (m), 0,83-0,92 (m).

40 **Preparación de 3-metil-D-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 146), 3-metil-L-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 147), L-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 148) y D-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil)pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil)-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 149).**



Etapa 1A. Síntesis de 3-metil-D-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 146). Una solución de n.º 114 (225 mg, 0,356 mmol, 1,0 equiv.) en 2 ml de diclorometano se añadió a una solución de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-3-metil-D-isovalina (126 mg, 0,356 mmol, 1,0 equiv.) en 4 ml de diclorometano. Se añadió base de Hunig (0,188 ml, 1,07 mmol, 3,0 equiv.), seguido de HATU (167 mg, 0,427 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. La reacción se concentró al vacío y después se recogió en acetato de etilo antes de lavarse dos veces con HCl 1 M y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se decantó. El disolvente orgánico se retiró en un Genevac. Se añadió THF (4 ml), seguido de dietilamina (2 ml, 19 mmol, 53,4 equiv.). La reacción se dejó en agitación durante ~12 horas. La reacción se concentró usando un Genevac, seguido de cromatografía de sílice (Gradiente: 0 % -30 % de metanol en acetato de etilo), produciendo n.º 146 (183 mg, 69 %) en forma de un sólido. CL-EM (Protocolo Q): m/z 746,4 [M+H⁺]; tiempo de retención =1,37 minutos. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 8,55 (d), 8,26-8,36 (m), 7,88-8,03 (m), 7,81 (d), 7,41-7,53 (m), 7,13-7,30 (m), 7,01 (s), 4,71-4,79 (m), 4,44-4,70 (m), 3,96-4,04 (m), 3,70-3,80 (m), 3,62-3,69 (m), 3,40-3,61 (m), 2,76-3,35 (m), 2,67-2,71 (m), 2,56-2,58 (m), 2,06-2,46 (m), 1,61-1,90 (m), 1,14-1,54 (m), 0,72-1,12 (m).

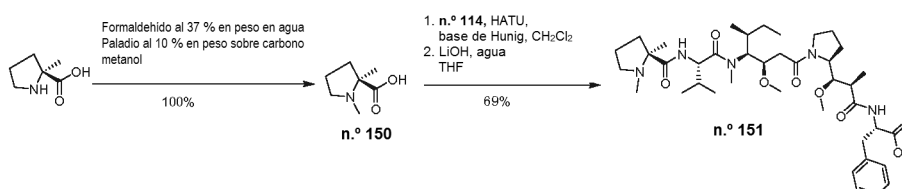
Etapa 1B. Síntesis de 3-metil-L-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil) amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 147). Una solución de n.º 114 (224 mg, 0,354 mmol, 1,0 equiv.) en 2 ml de diclorometano se añadió a una solución de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-3-metil-L-isovalina (125 mg, 0,354 mmol, 1,0 equiv.) en 4 ml de diclorometano. Se añadió base de Hunig (0,187 ml, 1,06 mmol, 3,0 equiv.), seguido de HATU (167 mg, 0,425 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. La reacción se concentró al vacío y después se recogió en acetato de etilo antes de lavarse dos veces con HCl 1 M y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se decantó. El disolvente orgánico se retiró en un Genevac. Se añadió THF (4 ml), seguido de dietilamina (2 ml, 19 mmol, 53,7 equiv.). La reacción se dejó en agitación durante ~12 horas. La reacción se concentró usando un Genevac, seguido de cromatografía de sílice (Gradiente: 0 % -30 % de metanol en acetato de etilo), produciendo n.º 147 (216 mg, 82 %) en forma de un sólido. CL-EM (Protocolo Q): m/z 746,6 [M+H⁺]; tiempo de retención =1,29 minutos. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 8,56 (m), 8,31-8,39 (m), 8,50 (d), 8,30 (d a), 7,87-8,01 (m), 7,80 (d), 7,40-7,53 (m), 7,14-7,30 (m), 4,45-4,78 (m), 3,94-4,04 (m), 3,70-3,79 (m), 3,61-3,69 (m), 3,42-3,59 (m), 2,97-3,37 (m), 2,80-2,92 (m), 2,32-2,49 (m), 2,05-2,30 (m), 1,61-1,89 (m), 1,37-1,56 (m), 1,14-1,135 (m), 0,70-1,11 (m).

Etapa 1C. Síntesis de L-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 148). Una solución de n.º 114 (447 mg, 0,707 mmol, 1,0 equiv.) en 2 ml de diclorometano se añadió a una solución de N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-isovalina (240 mg, 0,707 mmol, 1,0 equiv.) en 4 ml de diclorometano. Se añadió base

de Hunig (0,373 ml, 2,12 mmol, 3,0 equiv.), seguido de HATU (332 mg, 0,425 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. La reacción se concentró al vacío y después se recogió en acetato de etilo antes de lavarse dos veces con HCl 1 M y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se decantó. El disolvente orgánico se retiró en un Genevac. Se añadió THF (4 ml), seguido de dietilamina (2 ml, 19 mmol, 26,9 equiv.). La reacción se dejó en agitación durante ~12 horas. La reacción se concentró usando un Genevac, seguido de cromatografía de sílice (Gradiente: 0 % -30 % de metanol en acetato de etilo), produciendo **n.º 148** (182 mg, 35 %) en forma de un sólido. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 732,3 [M+H⁺]; tiempo de retención = 0,71 minutos. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 8,56 (d), 8,46-8,52 (m), 8,30 (d), 8,02-8,15 (m), 7,98 (d), 7,80 (d), 7,40-7,53 (m), 7,15-7,30 (m), 4,70-4,80 (m), 4,44-4,69 (m), 3,96-4,05 (m), 3,70-3,79 (m), 3,62-3,69 (m), 3,41-3,59 (m), 2,99-3,35 (m), 2,31-2,95 (m), 2,67-2,71 (m), 2,55-2,59 (m), 2,32-2,48 (m), 2,20-2,31 (m), 1,97-2,19 (m), 1,61-1,88 (m), 1,37-1,56 (m), 1,20-1,34 (m), 1,14-1,19 (m), 1,02-1,11 (m), 0,97-1,01 (m), 0,86-0,96 (m), 0,71-0,83 (m).

Etapa 1D. Síntesis de D-isovalil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-bencil-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (**n.º 149**). Una solución de **n.º 114** (447 mg, 0,707 mmol, 1,0 equiv.) en 2 ml de diclorometano se añadió a una solución de N-((9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil)-D-isovalina (240 mg, 0,707 mmol, 1,0 equiv.) en 4 ml de diclorometano. Se añadió base de Hunig (0,373 ml, 2,12 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (332 mg, 0,425 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. La reacción se concentró al vacío y después se recogió en acetato de etilo antes de lavarse dos veces con HCl 1 M y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se decantó. El disolvente orgánico se retiró en un Genevac. Se añadió THF (4 ml), seguido de dietilamina (2 ml, 19 mmol, 26,9 equiv.). La reacción se dejó en agitación durante ~12 horas. La reacción se concentró usando un Genevac, seguido de cromatografía de sílice (Gradiente: 0 % -30 % de metanol en acetato de etilo), produciendo **n.º 149** (154 mg, 30 %) en forma de un sólido. CL-EM (Protocolo Q): m/z 732,0 [M+H⁺]; tiempo de retención = 1,24 minutos. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 8,55 (d), 8,38-8,46 (m), 8,29 (d), 8,03-8,14 (m), 7,97 (d), 7,81 (d), 7,40-7,53 (m), 7,14-7,28 (m), 7,02 (s), 4,71-4,79 (m), 4,43-4,69 (m), 3,96-4,05 (m), 3,71-3,80 (m), 3,62-3,70 (m), 3,49-3,60 (m), 3,40-3,48 (m), 3,15-3,34 (m), 3,10-3,14 (m), 3,01-3,09 (m), 2,94-3,00 (m), 2,83-2,93 (m), 2,65-2,71 (m), 2,55-2,59 (m), 2,32-2,48 (m), 2,04-2,31 (m), 1,61-1,89 (m), 1,37-1,52 (m), 1,21-1,35 (m), 1,15-1,20 (m), 1,02-1,10 (m), 0,75-1,01 (m).

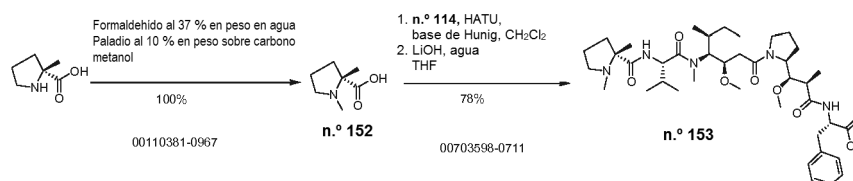
Preparación de 1,2-dimetil-L-prolil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-carboxi-2-feniletil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (n.º 151**).**



Etapa 1. Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolina (**n.º 150**). Un matraz Parr que contenía 2-metil-L-prolina (1,0 g, 7,7 mmol, 1,0 equiv.), 40 ml de metanol, formaldehído al 37 % en peso en agua (2,1 ml, 77 mmol, 10 equiv.) y paladio al 10 % en peso sobre carbono (313 mg, 2,94 mmol, 0,38 equiv.) se puso en un agitador Parr y se dejó en agitación en una atmósfera de 0,28 MPa (40 psi) de hidrógeno durante ~12 horas. Se retiró hidrógeno y la reacción se filtró a través de una capa de celite, que se aclaró con una solución de metanol al 50 % y diclorometano al 50 %. El residuo se concentró al vacío, produciendo **n.º 150** (1,1 g, 100 %) en forma de un sólido de color blanco ligeramente ennegrecido. CL-EM (Protocolo Q): m/z 144,0 [M+H⁺]; tiempo de retención = 0,17 minutos.

Etapa 2. Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-((1S,2R)-4-((2S)-2-((1R,2R)-3-(((1S)-1-carboxi-2-feniletil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-((1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil)-N-metil-L-valinamida (**n.º 151**). A una mezcla en agitación de **n.º 114** (125 mg, 0,198 mmol, 1,0 equiv.), **n.º 150** (37 mg, 0,26 mmol, 1,3 equiv.) y HATU (98 mg, 0,26 mmol, 1,3 equiv.) en 5 ml de diclorometano, se añadió base de Hunig (0,14 ml, 0,80 mmol, 4,1 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se concentró al vacío. Se añadió THF (6 ml) al material en bruto. A esta mezcla en agitación se añadió LiOH (14 mg, 0,59 mmol, 3,0 equiv.) en 2 ml de agua. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 90 minutos. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 5 % a 40 % de acetonitrilo en agua con TFA al 0,02 % en cada fase) para dar **n.º 151** (147 mg, 69 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 744,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,19 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 744,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 6,631 minutos (pureza > 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆), δ 9,57-9,71 (m), 8,75 (d), 8,42 (d), 8,15 (d), 7,14-7,29 (m), 4,70-4,79 (m), 4,40-4,68 (m), 3,95-4,03 (m), 3,73-3,80 (m), 3,37-3,61 (m), 2,97-3,31 (m), 2,79-2,88 (m), 2,66-2,76 (m), 2,54-2,58 (m), 2,31-2,43 (m), 1,94-2,29 (m), 1,57-1,91 (m), 1,21-1,52 (m), 0,85-1,10 (m), 0,74-0,82 (m).

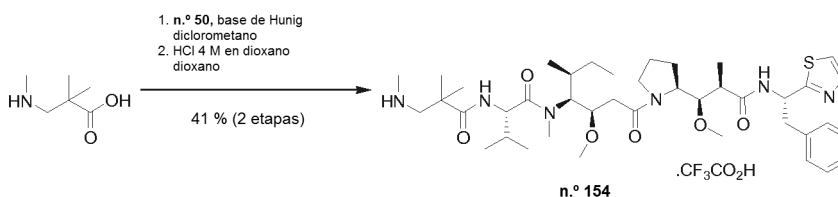
Preparación de 1,2-dimetil-D-prolil-N-{(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida (n.º 153).



5 *Etapa 1.* Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolina (n.º 152). En un matraz Parr que contenía 2-metil-D-prolina (432 mg, 3,34 mmol, 1,0 equiv.), formaldehído al 37 % en peso en agua (1,0 ml, 37 mM, 11 equiv.), 3,5 ml de metanol y 1 ml de agua, se añadió paladio 10 % en peso sobre carbono (108 mg, 0,304 mmol, 0,304 equiv.). El matraz se puso en un agitador Parr y se dejó en agitación en una atmósfera de 0,21 MPa (30 psi) de hidrógeno durante ~48 horas. Se retiró hidrógeno y la reacción se lavó a través de una capa de celite, que a continuación se lavó con metanol. Los materiales orgánicos se concentraron al vacío y después se destilaron azeotrópicamente con tolueno, proporcionando n.º 152 (517 mg, 100 %) en forma de un sólido. RMN ¹H (400 MHz, metanol-d₄): δ [3,61-3,56 (m, 1H), 3,07-2,96 (m, 1H), 2,68 (s a, 3H), 2,34-2,22 (m, 1H), 2,01-1,88 (m, 1H), 1,87-1,73 (m, 1H), 1,40 (s a, 3H)].

15 *Etapa 2.* Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-N-{(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida (n.º 153). A una mezcla en agitación de n.º 114 (240 mg, 0,379 mmol, 1,0 equiv.), n.º 152 (71 mg, 0,49 mmol, 1,3 equiv.) y HATU (188 mg, 0,49 mmol, 1,3 equiv.) en 10 ml de diclorometano, se añadió base de Hunig (0,27 ml, 4,1 mM, 4,1 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se concentró al vacío. Se añadió THF (6 ml) al material en bruto. A esta mezcla en agitación se añadió LiOH (36 mg, 1,5 mmol, 4 equiv.) disuelto en 2 ml de agua. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se concentró al vacío y el residuo se purificó por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 5 % a 40 % de acetonitrilo en agua con 0,02 % de TFA en cada fase) para dar n.º 153 (220 mg, 78 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q): m/z 744,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,16 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 744,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 6,713 minutos (pureza > 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 9,72-9,85 (m), 8,65 (t), 8,41 (d), 8,14 (d), 7,14-7,28 (m), 4,69-4,79 (m), 4,38-4,53 (m), 3,95-4,04 (m), 3,73-3,79 (m), 3,37-3,62 (m), 3,13-3,33 (m), 2,95-3,10 (m), 2,79-2,89 (m), 2,67-2,75 (m), 2,00-2,46 (m), 1,61-1,90 (m), 1,22-1,54 (m), 1,02-1,09 (m), 0,95-1,01 (m), 0,85-0,94 (m), 0,75-0,83 (m).

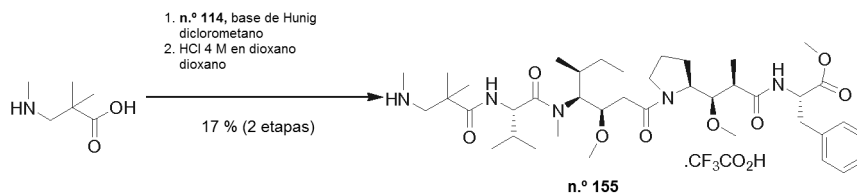
Preparación de Ejemplo de Referencia de N~2~[2,2-dimetil-3-(metilamino)propanoil]-N-{(1S,2R)-2-metoxi-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il}-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 154).



30 *Etapa 1.* Síntesis de N~2~[2,2-dimetil-3-(metilamino)propanoil]-N-{(1S,2R)-2-metoxi-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il}-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 154). En un vial que contenía n.º 50 (100 mg, 0,152 mmol, 1,0 equiv.) y 1 ml de diclorometano, se añadió ácido 2,2-dimetil-3-(metilamino)propanoico (36 mg, 0,152 mmol, 1,0 equiv.), seguido de base de Hunig (0,080 ml, 0,456 mmol, 3,0 equiv.) y HATU (66 mg, 0,17 mmol, 1,1 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se concentró al vacío y después se recogió en acetato de etilo antes de lavarse dos veces con HCl 1 M y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se decantó. La reacción se concentró al vacío. Se añadió dioxano (1 ml), seguido de HCl 4 M en dioxano (1,0 ml, 4,0 mmol, 26 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. La reacción se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 10 % a 100 % de acetonitrilo en agua con 0,02 % de TFA en cada fase), produciendo n.º 154 (55,8 mg, 41 %) en forma de un sólido. CL-EM (Protocolo Q): m/z 771,8 [M+H⁺]. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ 8,70 (d), 8,45 (d), 7,90-8,15 (m), 7,82 (d), 7,75 (d), 7,55 (dd), 7,40 (dd), 6,90-7,10 (m), 5,10-5,30 (m), 4,45-4,55 (a), 4,30-4,45 (m), 4,20-4,30 (m), 3,75-3,90 (m), 3,50-3,60 (m), 3,15-3,40 (m), 3,05-3,15 (m), 2,85-3,05 (m), 2,60-2,85 (m), 2,25-2,40 (m), 1,80-2,25 (m), 1,70-1,80 (m), 1,20-1,60 (m), 0,80-1,10 (m), 0,05-0,80 (m).

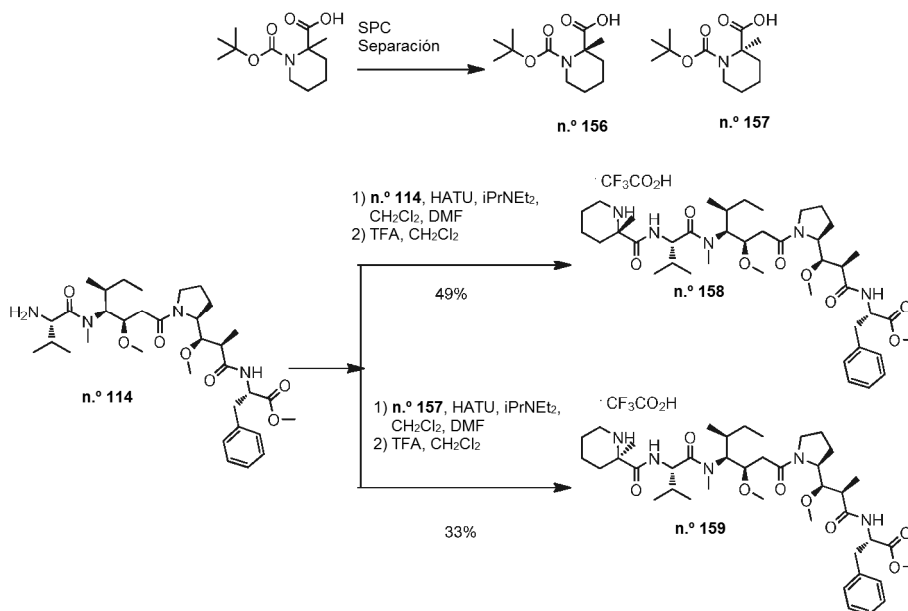
45

Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[[*N*-[2,2-dimetil-3-(metilamino)propanoil]-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (n.º 155).



- 5 **Etapa 1.** Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[[*N*-[2,2-dimetil-3-(metilamino)propanoil]-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (n.º 155). En un vial que contenía n.º 114 (96,2 mg, 0,152 mmol, 1,0 equiv.) y 1 ml de diclorometano, se añadió ácido 2,2-dimetil-3-(metilamino)propanoico (36,1 mg, 0,152 mmol, 1,0 equiv.), seguido de base de Hunig (0,080 ml, 0,456 mmol, 3,0 equiv.) y HATU (66 mg, 0,17 mmol, 1,1 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se concentró al vacío y después se recogió en acetato de etilo antes de lavarse dos veces con HCl 1 M y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se decantó. La reacción se concentró al vacío. Se añadió dioxano (1 ml), seguido de HCl 4 M en dioxano (1,0 ml, 4,0 mmol, 26 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante ~12 horas. La reacción se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 10 % a 100 % de acetonitrilo en agua con 0,02 % de TFA en cada fase), produciendo n.º 155 (22,2 mg, 17 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8,55 (d), 8,22 (d), 8,15-8,35 (m), 7,90-8,05 (m), 7,10-7,25 (m), 4,70-4,80 (m), 4,55-4,65 (m), 4,45-4,52 (m), 3,93-4,00 (m), 3,72-3,78 (m), 3,60-3,70 (m), 3,50-3,60 (m), 3,40-3,50 (m), 2,80-3,30 (m), 2,45-2,60 (m), 2,00-2,45 (m), 1,60-1,80 (m), 1,35-1,50 (m), 1,10-1,35 (m).

- 20 **Preparación de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-[(2*S*)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (n.º 158) y *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-[(2*R*)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (n.º 159).**



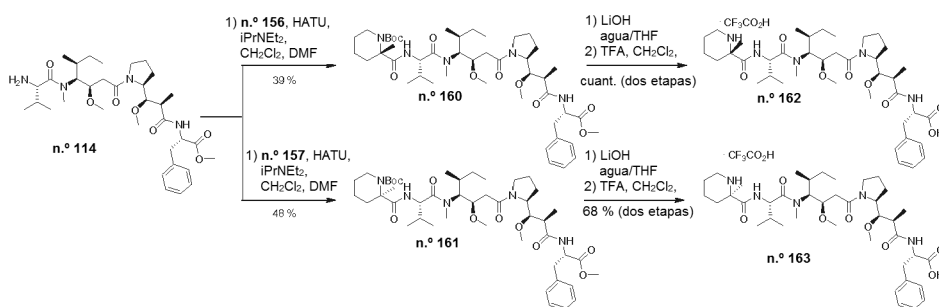
- 25 **Etapa 1.** Síntesis de ácido (2*S*)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-2-metilpiperidin-2-carboxílico (n.º 156) y ácido (2*R*)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-2-metilpiperidin-2-carboxílico (n.º 157). Se separó ácido 1-(*terc*-butoxicarbonil)-2-metilpiperidin-2-carboxílico (500 mg, 2,06 mmol, 1 equiv.) por cromatografía de fluidos supercríticos (Columna: Chiralcel OJ-H, 250 x 21 mm; Eluyente: 90:10 de dióxido de carbono/etanol; Caudal: 65 g/min; para dar los enantiómeros correspondientes. El primer pico de elusión (tiempo de retención = 1,57 minutos) se aisló para dar n.º 156 en forma de una goma (140 mg, 28 %) (estereoquímica asignada arbitrariamente como el enantiómero S). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,83-3,90 (m, 1H), 2,93-3,01 (m, 1H), 1,87-1,97 (m, 1H), 1,67-1,77 (m, 3H), 1,48-1,66 (m, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,44 (s, 9H). Rotación óptica: [α]_D25 -21,7° (c 0,40, cloroformo). El segundo pico de elusión (tiempo de retención = 2,22 minutos) se aisló para dar n.º 157 en forma de un aceite (255 mg, 51 %) (estereoquímica asignada

arbitrariamente como el enantiómero *R*). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 3,83-3,90 (m, 1H), 2,93-3,01 (m, 1H), 1,87-1,97 (m, 1H), 1,67-1,77 (m, 3H), 1,48-1,66 (m, 2H), 1,46 (s, 3H), 1,44 (s, 9H). Rotación óptica: [α]_D²⁵ +30,2°(cloroformo).

5 **Etapa 2A.** Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-{(2*S*)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil}pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 158**). A una solución de **n.º 156** (8,3 mg, 0,034 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (0,3 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,05 ml), se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,018 ml, 0,102 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (16,1 mg, 0,041 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos y se añadió **n.º 114** (23,4 mg, 0,037 mmol, 1,1 equiv.) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se diluyó con diclorometano (2,5 ml) y se añadió ácido cítrico al 10 % (1,5 ml). Las fases se separaron usando un cartucho de separación de fases y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 2,5 ml), y las fases orgánicas combinadas se concentraron al vacío. El residuo se disolvió en diclorometano (4 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (0,5 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se concentró al vacío. La purificación por cromatografía de fase inversa (procedimiento M*) proporcionó **n.º 158** (10,6 mg, 49 %). HPLC (Protocolo T): *m/z* 758,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,53 minutos (pureza >99 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,74-8,90 (m), 8,49-8,55 (m), 8,24 (d), 8,08-8,12 (m), 7,94-8,01 (m), 7,14-7,26 (m), 4,71-4,77 (m), 4,57-4,68 (m), 4,44-4,55 (m), 3,94-4,0 (m), 3,73-3,78 (m), 3,40-3,72 (m), 3,16-3,32 (m), 2,98-3,16 (m), 2,82-2,92 (m), 2,47-2,56 (m), 2,38-2,44 (m), 2,20-2,37 (m), 2,08-2,19 (m), 1,74-1,88 (m), 1,61-1,73 (m), 1,52-1,59 (m), 1,22-1,52 (m), 1,05 (dd), 0,94-1,00 (m), 0,85-0,93 (m), 0,74-0,79 (m).

20 **Etapa 2B.** Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-{(2*R*)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil}pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 159**). A una solución de **n.º 157** (7,8 mg, 0,032 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (0,3 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,05 ml), se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,017 ml, 0,096 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (14,9 mg, 0,038 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos y se añadió **n.º 114** (22,1 mg, 0,035 mmol, 1,1 equiv.) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y después se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 80 % de acetona en heptano) proporcionó un sólido de color blanco, que se disolvió en dioxano (0,2 ml) y se añadió HCl 4 N en dioxano (0,2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se añadió más cantidad de HCl 4 N en dioxano (0,1 ml). La reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente y se concentró al vacío. La purificación por cromatografía de fase inversa (Procedimiento M*) proporcionó **n.º 159** (6,6 mg, 33 %). HPLC (Protocolo T): *m/z* 758,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,46 minutos (pureza = 89 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,86-8,95 (m), 8,75-8,84 (m), 8,48-8,54 (m), 8,33-8,45 (m), 8,22-8,27 (m), 8,17-8,19 (m), 7,99-8,12 (m), 7,83-7,91 (m), 7,13-7,29 (m), 7,04-7,08 (m), 4,69-4,76 (m), 4,55-4,66 (m), 4,45-4,53 (m), 3,96-4,01 (m), 3,41-3,78 (m), 3,28-3,33 (m), 3,24-3,27 (m), 3,16-3,23 (m), 3,11-3,15 (m), 3,02-3,10 (m), 2,93-3,02 (m), 2,91-2,93 (m), 2,84-2,91 (m), 2,76-2,82 (m), 2,69-2,71 (m), 2,60-2,63 (m), 2,53-2,55 (m), 2,47-2,53 (m), 2,40-2,46 (m), 2,30-2,38 (m), 2,20-2,30 (m), 2,06-2,17 (m), 1,75-1,87 (m), 1,52-1,74 (m), 1,35-1,51 (m), 1,14-1,34 (m), 1,01-1,08 (m), 0,92-1,0 (m), 0,85-0,94 (m), 0,74-0,82 (m).

40 **Preparación de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-{(2*S*)-2-metil-piperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil}pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 162**), y *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-{(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-{(2*R*)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil}pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 163**).**



45 **Etapa 1A.** Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-{(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-{(2*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-2-metil-piperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil}pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo (**n.º 160**). A una solución de **n.º 156** (106 mg, 0,436 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (3 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml) se añadió diisopropiletilamina (0,228 ml, 1,31 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (205 mg, 0,523 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos y se añadió **n.º 114** (276 mg, 0,436 mmol, 1 equiv.) y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se diluyó con diclorometano (10 ml) y se lavó con ácido cítrico al 10 % (3 x 5 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el filtrado se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 80 % de acetona en heptano) proporcionó **n.º 160** (145 mg, 39 %). CL-EM (protocolo Q1): *m/z* 858,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,12

minutos.

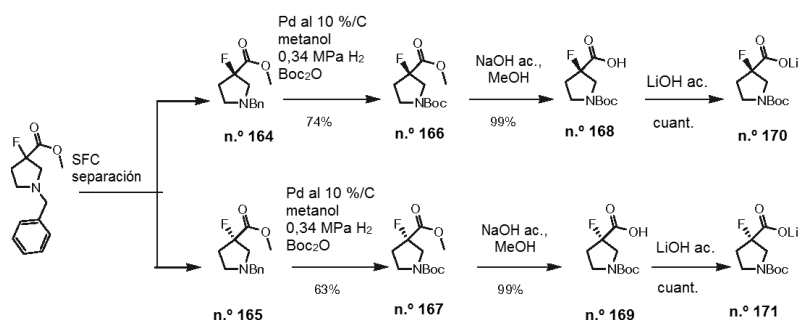
Etapa 1B. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-{(2*R*)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-2-metil-piperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo (**n.º 161**). A una solución de **n.º 157** (109 mg, 0,448 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (3 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml), se añadió diisopropiletilamina (0,234 ml, 1,34 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (205 mg, 0,538 mmol, 1,2 equiv.). La reacción se agitó durante 15 minutos y se añadió **n.º 114** (284 mg, 0,448 mmol, 1 equiv.). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, la mezcla se diluyó con diclorometano (10 ml), se lavó con ácido cítrico al 10 % (3 x 5 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. La purificación del residuo por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 100 % de acetona en heptano) proporcionó **n.º 161** (185 mg, 48 %). CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 858,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,25 minutos.

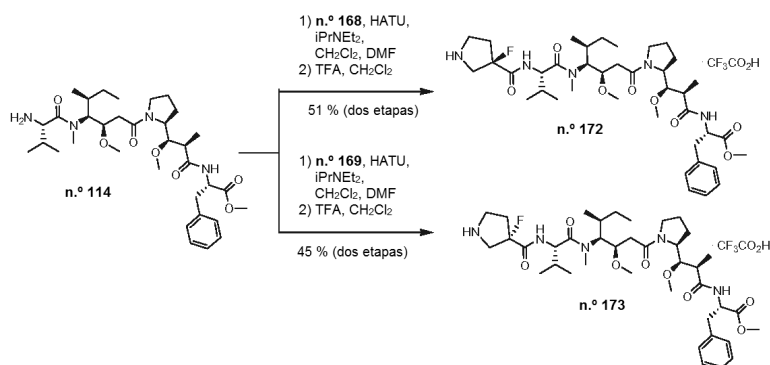
Etapa 2A. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-{(2*S*)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 162**). A una solución de **n.º 160** (145 mg, 0,169 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (1,25 ml) se añadió hidróxido de litio (8 mg, 0,338 mmol, 2 equiv.) disuelto en agua (0,75 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se evaporó a sequedad al vacío. El residuo se disolvió en diclorometano (2,5 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (1 ml). La reacción se agitó durante 30 minutos, se concentró al vacío y se purificó por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 0 % a 100 % de acetonitrilo en agua con 0,02 % de TFA en cada fase) para proporcionar el compuesto del título **n.º 162** (145 mg, cuantitativo) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo U): *m/z* 744,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,121 minutos (pureza = 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆). δ 8,76-8,96 (m), 8,52-8,58 (m), 8,38-8,43 (m), 8,11-8,16 (m), 7,27-7,30 (m), 7,12-7,27 (m), 7,01-7,05 (m), 4,71-4,79 (m), 4,48-4,67 (m), 4,39-4,47 (m), 3,79-4,22 (m), 3,71-3,78 (m), 3,38-3,57 (m), 3,22-3,30 (m), 3,14-3,23 (m), 3,07-3,13 (m), 2,96-3,06 (m), 2,76-2,87

(m), 2,66-2,68 (m), 2,47-2,57 (m), 2,42-2,44 (m), 2,06-2,40 (m), 1,73-1,89 (m), 1,51-1,72 (m), 1,36-1,49 (m), 1,20-1,35 (m), 1,00-1,09 (m), 0,95-0,99 (m), 0,83-0,94 (m), 0,73-0,80 (m).

Etapa 2B. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(*N*-{(2*R*)-2-metilpiperidin-2-il]carbonil)-*L*-valil]amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 163**). El compuesto **n.º 161** (185 mg, 0,216 mmol, 1 equiv.) se convirtió en el compuesto del título en bruto **n.º 163**, usando el procedimiento descrito para la preparación de **n.º 162**. El material en bruto se purificó por cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 0 % a 85 % de acetonitrilo en agua con 0,02 % de TFA en cada fase) para producir **n.º 163** (127 mg, 68 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo U): *m/z* 744,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,077 minutos (pureza = 98 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆). δ 8,79-8,99 (m), 8,36-8,49 (m), 8,12-8,17 (m), 7,31-7,34 (m), 7,11-7,27 (m), 7,05-7,09 (m), 4,71-4,77 (m), 4,54-4,68 (m), 4,40-4,53 (m), 3,88-4,39 (m), 3,71-3,77 (m), 3,39-3,58 (m), 3,22-3,32 (m), 3,10-3,22 (m), 3,04-3,09 (m), 2,92-3,03 (m), 2,77-2,88 (m), 2,68-2,71 (m), 2,47-2,57 (m), 2,43-2,45 (m), 2,30-2,42 (m), 2,03-2,29 (m), 1,74-1,88 (m), 1,52-1,73 (m), 1,37-1,51 (m), 1,17-1,37 (m), 1,00-1,07 (m), 0,95-0,99 (m), 0,84-0,93 (m), 0,73-0,81 (m).

Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-{(3*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil)-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (n.º 172**), y el Ejemplo de Referencia *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-{(3*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil)-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 173**).**





5 **Etapa 1.** Síntesis de (3R)-1-bencil-3-fluoropirrolidin-3-carboxilato de metilo (**n.º 164**) y (3S)-1-bencil-3-fluoropirrolidin-3-carboxilato de metilo (**n.º 165**). Se preparó el 1-bencil-3-fluoropirrolidin-3-carboxilato de metilo conocido (3900 mg, 16,4 mmol, 1 equiv.) por cromatografía de fluidos supercríticos (Columna: Chiralpak IC, 250 x 21 mm; Eluyente: 95:5 de dióxido de carbono/propanol; Caudal: 65 g/min; para dar los enantiómeros correspondientes. El primer pico de elusión (tiempo de retención = 3,37 minutos) se aisló para proporcionar **n.º 164** (1720 mg, 36 %) como un enantiómero individual (estereoquímica asignada arbitrariamente como enantiómero R). RMN ¹H (400 MHz, TMS-CDCl₃; δ 7,17-7,30 (m, 5H), 3,74 (s, 3H), 3,65 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 3,63 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 2,86-3,03 (m, 3H), 2,61 (c, J = 8,0 Hz, 1H), 2,34-2,46 (m, 1H), 2,13-2,26 (m, 1H). Rotación óptica: [α]_D25 +24,7° (cloroformo). El segundo pico de elusión (tiempo de retención = 3,91 minutos) se aisló para proporcionar **n.º 165** (1600 mg, 33 %) como un enantiómero individual (estereoquímica asignada arbitrariamente como enantiómero S). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, (CH₃)₄Si), δ 7,17-7,30 (m, 5H), 3,74 (s, 3H), 3,65 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 3,63 (d, J = 12,9 Hz, 1H), 2,86-3,03 (m, 3H), 2,61 (c, J = 8,0 Hz, 1H), 2,34-2,46 (m, 1H), 2,13-2,26 (m, 1H). Rotación óptica: [α]_D25 - 23,3° (cloroformo).

15 **Etapa 2A.** Síntesis de (3R)-3-fluoropirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-metil 1-*terc*-butilo (**n.º 166**). A una solución que contenía **n.º 164** (355 mg, 1,50 mmol, 1 equiv.) y carbonato de di-*terc*-butilo (400 mg, 1,8 mmol, 1,2 equiv.) en metanol (15,5 ml) se añadió Pd al 10 %/C (70 mg). La reacción se hidrogenó a 0,34 MPa (45 psi) en un agitador Parr durante 22 horas, se filtró sobre celite y el filtrado se concentró al vacío y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 30 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 166** en forma de un aceite transparente. (272 mg, 74 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ 3,87 (s, 3H), 3,85-3,66 (m, 3H), 3,56 (m, 1H), 2,53-2,28 (m, 2H), 1,51 (s, 9H).

20 **Etapa 2B.** Síntesis de (3S)-3-fluoropirrolidin-1,3-dicarboxilato de 3-metil 1-*terc*-butilo (**n.º 167**). El compuesto **n.º 165** (362 mg, 1,53 mmol, 1 equiv.) se convirtió en **n.º 167** con un rendimiento del 63 %, usando el procedimiento descrito anteriormente para **n.º 164**. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ 3,87 (s, 3H), 3,85-3,66 (m, 3H), 3,56 (m, 1H), 2,53-2,28 (m, 2H), 1,51 (s, 9H).

25 **Etapa 3A.** Síntesis de ácido (3R)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidin-3-carboxílico (**n.º 168**). A una solución de **n.º 166** (272 mg, 1,10 mmol, 1 equiv.) disuelto en metanol (2,96 ml) se añadió una solución acuosa de hidróxido sódico (2,5 M, 0,88 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3,5 horas. La reacción se interrumpió con ácido cítrico acuoso al 10 % (5 ml), se añadió acetato de etilo (100 ml) y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con ácido cítrico al 10 %, agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar **n.º 168** en forma de un sólido de color blanco. (253mg, 99 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ 3,96-3,69 (m, 3H), 3,59 (m, 1H), 2,59-2,33 (m, 2H), 1,51 (s, 9H). CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 232,1 [M-H⁺], tiempo de retención = 0,67 minutos. tiempo de retención de HPLC quiral: 3,39 min (pureza = 99 %). (Columna: Chiralpak AD-H, 4,6 mm x 25 cm, fase móvil CO₂ al 5-60 %/Metanol, caudal 3,0 ml/min); Rotación óptica: [α]_D25 4,8 (c = 0,52, MeOH)

35 **Etapa 3B.** Síntesis de ácido (3S)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidin-3-carboxílico (**n.º 169**). A una solución de **n.º 167** (238 mg, 0,963 mmol, 1 equiv.) disuelto en metanol (2,6 ml) se añadió una solución acuosa de hidróxido sódico (2,5 M, 0,88 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Después, la reacción se interrumpió con ácido cítrico acuoso al 10 % (5 ml) y se añadió acetato de etilo (100 ml), y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con ácido cítrico al 10 %, agua y salmuera, después se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío para proporcionar **n.º 169** en forma de un sólido de color blanco (221 mg, 99 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃), δ 3,96-3,69 (m, 3H), 3,59 (m, 1H), 2,59-2,33 (m, 2H), 1,51 (s, 9H). CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 232,1 [M-H⁺], tiempo de retención = 0,67 minutos. tiempo de retención de HPLC quiral: 3,95 min (pureza = 98 %) (Columna: Chiralpak AD-H, 4,6 mm x 25 cm, fase móvil CO₂ al 5-60 %/Metanol, caudal 3,0 ml/min); Rotación óptica: [α]_D25 -3,6 (c = 0,55, MeOH)

45 **Etapa 4A.** Síntesis de (3R)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidin-3-carboxilato de litio (**n.º 170**). A una solución de **n.º 168** (50 mg, 0,21 mmol, 1 equiv.) en metanol (0,2 ml) se añadió una solución de hidróxido de litio (9,2 mg, 0,38 mmol, 1,8 equiv.) disuelto en agua (0,1 ml). A continuación, se añadió tetrahidrofurano (0,3 ml) y la reacción se agitó a 45 °C durante 18 horas. La reacción se concentró al vacío y el material se destiló azeotrópicamente (3 x) con tolueno (2 ml) para obtener **n.º 170** (51 mg, 100 %) en forma de un sólido de color blanco, que se usó en la siguiente

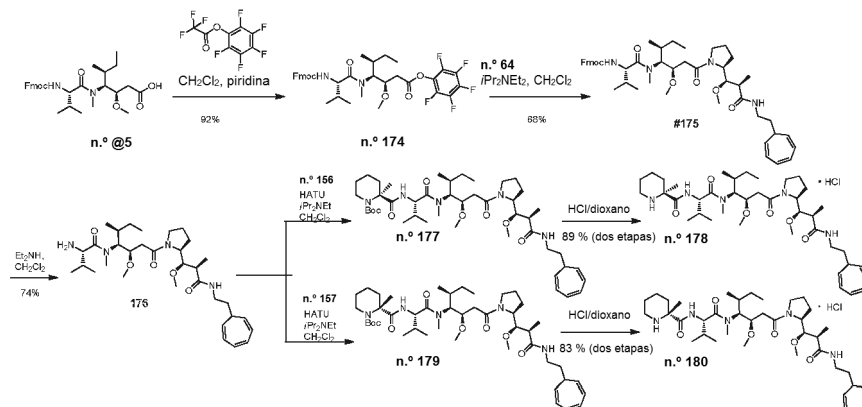
etapa sin purificación adicional.

Etapa 4B. Síntesis de (3S)-1-(*terc*-butoxicarbonil)-3-fluoropirrolidin-3-carboxilato de litio (**n.º 171**). A una solución de **n.º 169** (75 mg, 0,32 mmol, 1 equiv.) en metanol (0,3 ml) se añadió una solución de hidróxido de litio (13,8 mg, 0,572 mmol, 1,8 equiv.) en agua (0,4 ml). A continuación, se añadió tetrahidrofurano (0,45 ml) y la reacción se agitó a 45 °C durante 18 horas. La reacción se concentró al vacío y el material se destiló azeotrópicamente (3 x) con tolueno (4 ml) para obtener **n.º 171** (77 mg, 100 %) en forma de un sólido de color blanco, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 5A. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-[(3*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 172**). A una suspensión de **n.º 168** (36,9 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) y **n.º 114** (100 mg, 0,158 mmol, 1,0 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida (0,8 ml) y diclorometano (3,6 ml) se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,083 ml, 0,474 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (60,7 mg, 0,158 mmol, 1,0 equiv.) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó sucesivamente con agua, ácido cítrico acuoso al 10 % (P/V) y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío para dar 220 mg (164 % del teórico) de un intermedio en bruto. Una porción de este intermedio en bruto (50 mg, 23 %) se disolvió en diclorometano (1,5 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (0,4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se evaporó a sequedad al vacío. La purificación por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) proporcionó **n.º 172** (15,8 mg, 51 %) CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 748,9 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,29 minutos. RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 9,16-9,43 (m), 8,48-8,53 (m), 8,40-8,44 (m), 8,34-8,39 (m), 8,22-8,30 (m), 8,09-8,16 (m), 7,87-7,91 (m), 7,77-7,83 (m), 7,12-7,24 (m), 4,56-4,72 (m), 4,41-4,54 (m), 3,92-4,00 (m), 3,70-3,75 (m), 3,39-3,66 (m), 3,20-3,25 (m), 3,12-3,20 (m), 2,97-3,11 (m), 2,94 (s a), 2,75-2,89 (m), 2,63-2,69 (m), 2,47-2,54 (m), 2,29-2,45 (m), 2,15-2,27 (m), 2,02-2,15 (m), 1,57-1,87 (m), 1,33-1,51 (m), 1,19-1,30 (m), 1,02 (dd), 0,82-0,97 (m), 0,70-0,79 (m).

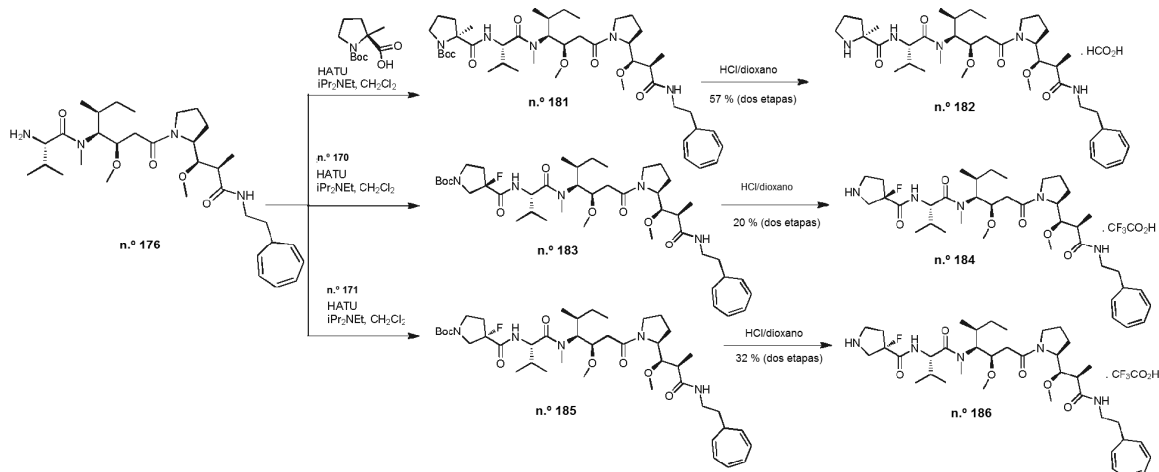
Etapa 5B. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-[(3*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 173**). A una suspensión de **n.º 169** (36,9 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) y **n.º 114** (100,0 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida (0,8 ml) y diclorometano (3,6 ml) se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,083 ml, 0,474 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (60,7 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 14 horas, se diluyó con acetato de etilo y se lavó sucesivamente con agua, ácido cítrico acuoso al 10 % (P/V) y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío para dar 180 mg (134 % del teórico) de un intermedio en bruto. Una porción de éster intermedio en bruto (50 mg, 27 %) se disolvió en diclorometano (1,5 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (0,4 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se evaporó a sequedad al vacío. La purificación por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) proporcionó **n.º 173** (17,6 mg, 45 %) CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 748,9 [M+H⁺]; tiempo de retención = 1,29 minutos. RMN ¹H (DMSO-*d*₆) δ 9,35-9,50 (m), 9,22-9,34 (m), 8,47-8,52 (m), 8,39-8,45 (m), 8,30-8,37 (m), 8,22-8,24 (m), 8,09-8,13 (m), 7,80-7,85 (m), 7,67-7,72 (m), 7,09-7,24 (m), 6,97-6,98 (m), 4,65-4,72 (m), 4,55-4,64 (m), 4,41-4,50 (m), 3,92-3,99 (m), 3,42-3,75 (m), 3,32-3,39 (m), 3,25-3,31 (m), 3,21-3,24 (m), 3,11-3,20 (m), 3,06-3,11 (m), 2,97-3,05 (m), 2,95 (s a), 2,83-2,88 (m), 2,76-2,82 (m), 2,65-2,70 (m), 2,44-2,54 (m), 2,15-2,42 (m), 2,02-2,14 (m), 1,57-1,84 (m), 1,33-1,48 (m), 1,19-1,30 (m), 1,02 (dd), 0,92-0,97 (m), 0,82-0,91 (m), 0,70-0,77 (m).

Preparación de (2*S*)-*N*-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida, sal clorhidrato (n.º 178**), y (2*R*)-*N*-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metil-piperidin-2-carboxamida, sal clorhidrato (**n.º 180**).**



- 5 *Etapa 1.* Síntesis de (3R,4S,5S)-4-[[N-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoato de pentafluorofenilo (**n.º 174**). A una solución de **n.º 5** (19,43 g, 37,03 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (100 ml) y piridina (5,86 g, 74,1 mmol, 2 equiv.) se añadió trifluoroacetato de pentafluorofenilo (20,7 g, 74,1 mmol, 2 equiv.) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción se concentró al vacío y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 52 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 174** (23,58 g, 92 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 691,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,23 minutos.
- 10 *Etapa 2.* Síntesis de *N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-2-[[9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 175**). A una solución de **n.º 174** (706 mg, 1,02 mmol, 1 equiv.) y **n.º 64** (311 mg, 1,02 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (3 ml) se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (400 mg, 3,07 mmol, 3 equiv.). Después de 18 horas de agitación a temperatura ambiente, la reacción se concentró al vacío y se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 100 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 175** (560 mg, 68 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 611,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,15 minutos.
- 15 *Etapa 3.* Síntesis de *N*-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 176**). De acuerdo con el procedimiento general A, a partir de **n.º 175** (560 mg, 0,690 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (9 ml) y *N,N*-dietilamina (6,0 ml), se sintetizó el compuesto deseado en bruto, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 50 % de metanol en diclorometano) para proporcionar **n.º 176** (351 mg, 87 %) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 589,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,72 minutos.
- 20 *Etapa 4A.* Síntesis de (2S)-2-[[[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**n.º 177**). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de **n.º 176** (100 mg, 0,170 mmol, 1 equiv.), **n.º 156** (53,8 mg, 0,221 mmol, 1,3 equiv.), diclorometano (4,5 ml), HATU (84,9 mg, 0,221 mmol, 1,3 equiv.) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,123 ml, 0,697 mmol, 4,1 equiv.), se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 100 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 177** (145 mg, asumido rendimiento cuantitativo) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 814,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,14 minutos.
- 25 *Etapa 4B.* Síntesis de (2R)-2-[[[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**n.º 179**). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de **n.º 176** (100 mg, 0,170 mmol, 1 equiv.), **n.º 157** (53,8 mg, 0,221 mmol, 1,3 equiv.), diclorometano (4,5 ml), HATU (84,9 mg, 0,221 mmol, 1,3 equiv.) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,123 ml, 0,697 mmol, 4,1 equiv.), se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 100 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar **n.º 179** (155 mg, asumido rendimiento cuantitativo) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 814,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,14 minutos.
- 30 *Etapa 5A.* Síntesis de (2S)-*N*-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida, sal clorhidrato (**n.º 178**). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de **n.º 177** (143 mg, 0,176 mmol, 1 equiv.) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (2,0 ml) se sintetizó el material deseado en forma de una goma (145 mg). Una porción de este residuo en bruto (25 mg) se destiló azeotrópicamente con una mezcla de metanol/acetonitrilo para proporcionar **n.º 178** (20 mg, rendimiento del 89 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8,96-9,07 (m), 8,79-8,96 (m), 8,58 (d), 8,02-8,08 (m), 7,77-7,83 (m), 7,25-7,31 (m), 7,19-7,24 (m), 6,56-6,67 (m), 6,12-6,21 (m), 5,13-5,22 (m), 4,72-4,81 (m), 4,63-4,70 (m), 4,50-4,59 (m), 4,07-4,16 (m), 3,98-4,05 (m), 3,80-3,86 (m), 3,55-3,76 (m), 3,46-3,54 (m), 3,38-3,44 (m), 3,26-3,35 (m), 3,18-3,24 (m), 3,05-3,18 (m), 2,98-3,04 (m), 2,40-2,55 (m), 2,27-2,35 (m), 2,08-2,27 (m), 1,74-1,98 (m), 1,50-1,74 (m), 1,20-1,46 (m), 0,73-1,16 (m). CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 714,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,76 minutos. HPLC (Protocolo U): *m/z* 714,5 [M+H⁺]; tiempo de retención = 7,124 minutos (pureza = 91 %).
- 35 *Etapa 5B.* Síntesis de (2R)-*N*-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida, sal clorhidrato (**n.º 180**). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de **n.º 179** (162 mg, 0,199 mmol, 1 equiv.) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (2,0 ml) se sintetizó el material deseado en forma de una goma (155 mg). Una porción de esta goma (25 mg) se destiló azeotrópicamente con una mezcla 1/1 de metanol/acetonitrilo para proporcionar **n.º 180** (20 mg, 83 %) en forma de un sólido. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 9,02-9,13 (m), 8,83-8,93 (m), 8,39-8,46 (m), 8,00-8,06 (m), 7,78 (t), 7,24-7,30 (m), 7,16-7,21 (m), 6,54-6,65 (m), 6,09-6,19 (m), 5,11-5,18 (m), 4,69-4,78 (m), 4,59-4,68 (m), 4,46-4,56 (m), 4,08-4,13 (m), 3,95-4,03 (m), 3,77-3,85 (m), 3,54-3,73 (m), 3,43-3,53 (m), 3,37-3,42 (m), 3,24-3,33 (m), 3,16-3,22 (m), 3,03-3,15 (m), 2,99-3,02 (m), 2,89-2,98 (m), 2,65-2,76 (m), 2,41-2,54 (m), 2,15-2,39 (m), 2,07-2,15 (m), 1,51-1,94 (m), 1,49 (d), 1,38 (t), 1,20-1,32 (m), 1,02-1,09 (m), 0,84-0,97 (m), 0,73-0,81 (m). CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 714,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,76 HPLC (Protocolo U): *m/z* 714,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,409 minutos (pureza = 90 %).
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60

Preparación de 2-metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2*A*6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido fórmico (n.º 182), y Ejemplo de Referencia *N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-2-[[3(*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 184) y Ejemplo de Referencia *N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-2-[[3(*S*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 186).



10 **Etapa 1A.** Síntesis de 1-(*tert*-butoxicarbonil)-2-metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (n.º 181). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de n.º 176 (100 mg, 0,170 mmol, 1 equiv.), (S)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-2-metil-L-prolina (50,7 mg, 0,221 mmol, 1,3 equiv.), diclorometano (4,3 ml), HATU (84,9 mg, 0,221 mmol, 1,3 equiv.) y *N,N*-diisopropiletilamina (0,123 ml, 0,697 mmol, 4,1 equiv.), se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0 a 100 % de acetato de etilo en heptano) para proporcionar n.º 181 (142 mg, asumido rendimiento cuantitativo). CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 800,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,11 minutos.

15 **Etapa 1B.** Síntesis de (3*R*)-3-[[2(*S*)-1-[[3(*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-3-fluoropirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (n.º 183). A una solución de n.º 170 (18,2 mg, 0,076 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (1,8 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,3 ml) se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,040 ml, 0,228 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (29,2 mg, 0,076 mmol, 1 equiv.). Después de agitar durante 10 minutos a temperatura ambiente, se añadió n.º 176 (45 mg, 0,076 mmol, 1 equiv.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se añadió más cantidad de HATU (29 mg, 0,076 mmol, 1 equiv.). Después de 8 horas, la reacción se concentró al vacío para proporcionar n.º 183 (61,0 mg, cuantitativo), que se recogió en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 826,6 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,05 minutos.

20 **Etapa 1C.** Síntesis de (3*S*)-3-[[2(*S*)-1-[[3(*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-3-fluorociclopentanocarboxilato de *tert*-butilo (n.º 185). A una solución de n.º 171 (24 mg, 0,1 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (2,35 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,33 ml) se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (0,053 ml, 0,300 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (38,4 mg, 0,100 mmol, 1 equiv.). Después de agitar a temperatura ambiente durante 10 minutos, se añadió n.º 176 (58,9 mg, 0,1 mmol, 1 equiv.). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se añadió más cantidad de HATU (38,4 mg, 0,100 mmol, 1 equiv.) y *N,N*-dimetilformamida (0,2 ml) y se agitó durante 9 horas más. La reacción se concentró al vacío para dar n.º 185 (80 mg, cuantitativo), que se recogió en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 804,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,05 minutos.

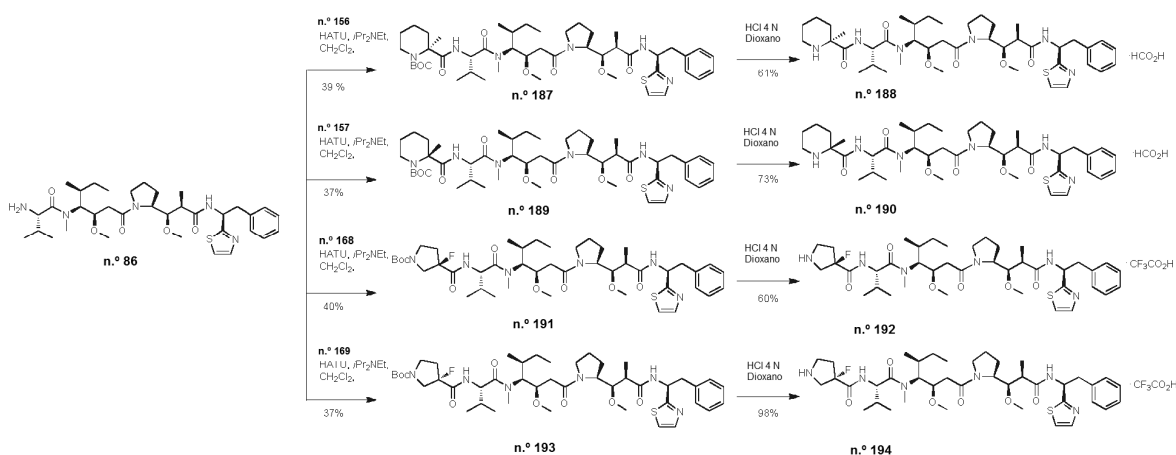
30 **Etapa 2A.** Síntesis de 2-metil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido fórmico (n.º 182). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de n.º 181 (136 mg, 0,170 mmol, 1 equiv.) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (2 ml) se sintetizó el material deseado en forma de una goma (142 mg). Una porción de este residuo en bruto (20 mg, 14 %) se destiló azeotrópicamente con una mezcla 1/1 de metanol/acetonitrilo y después se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento O*) para obtener n.º 182 (10 mg, 57 % en dos etapas) en forma de un sólido. HPLC (Protocolo U): *m/z* 700,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,106 minutos (pureza > 90 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8,25-8,39 (m), 8,20-8,25 (m), 7,96-7,99 (m), 7,74-7,77 (m), 6,55-6,63 (m), 6,10-6,18 (m), 5,11-5,18 (m), 4,66-4,72 (m), 4,51-4,61 (m), 4,46-4,50 (m), 3,96-4,01 (m),

3,37-3,86 (m), 3,20-3,36 (m), 3,11-3,19 (m), 3,03-3,11 (m), 2,98-3,03 (m), 2,90-2,96 (m), 2,77-2,79 (m), 2,65-2,73 (m), 2,57-2,63 (m), 2,47-2,56 (m), 2,36-2,46 (m), 2,26-2,32 (m), 2,14-2,25 (m), 2,03-2,10 (m), 1,92-2,03 (m), 1,72-1,92 (m), 1,64-1,72 (m), 1,60-1,64 (m), 1,50-1,59 (m), 1,39-1,48 (m), 1,23-1,32 (m), 1,18-1,22 (m), 1,12-1,14 (m), 1,01-1,09 (m), 0,83-1,00 (m), 0,74-0,83 (m), 0,70-0,74 (m).

5 **Etapa 2B.** Síntesis de sal de ácido trifluoroacético de *N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-2-~{[(3*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil}-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 184**). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de **n.º 183** (61,1 mg, 0,076 mmol, 1 equiv.), diclorometano (0,3 ml) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (0,9 ml) se sintetizó el material en bruto deseado (140 mg). Una porción del material en bruto (98 mg, 69 %) se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) para dar **n.º 184** (7,6 mg, 20 % en dos etapas). HPLC (Protocolo T): *m/z* 704,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,50 minutos (pureza = 84 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8,67-8,71 (m), 8,44-8,48 (m), 8,27-8,33 (m), 8,22-8,27 (m), 7,97-8,03 (m), 7,84-7,89 (m), 7,74-7,81 (m), 7,43-7,48 (m), 7,23-7,29 (m), 7,17-7,21 (m), 6,55-6,66 (m), 6,10-6,19 (m), 5,10-5,19 (m), 4,66-4,75 (m), 4,51-4,63 (m), 3,96-4,04 (m), 3,78-3,85 (m), 3,65-3,73 (m), 3,46-3,62 (m), 3,37-3,45 (m), 3,24-3,37 (m), 3,21-3,24 (m), 3,13-3,21 (m), 3,02-3,13 (m), 2,95-3,00 (m), 2,80-2,82 (m), 2,66-2,71 (m), 2,47-2,57 (m), 2,24-2,46 (m), 2,09-2,24 (m), 1,95-2,05 (m), 1,49-1,93 (m), 1,22-1,34 (m), 1,02-1,09 (m), 0,83-1,01 (m), 0,74-0,82 (m).

20 **Etapa 2C.** Síntesis de *N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-2-~{[(3*S*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil}-*N*-metil-*L*-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 186**). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de **n.º 185** (80,3 mg, 0,1mmol, 1 equiv.), diclorometano (0,4 ml) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (1,2 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, en el que se purificó una porción (94 mg, 53 %) por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) para dar **n.º 186** (11,8 mg, 32 % en dos etapas). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆), δ 8,85-9,07 (m), 8,29-8,41 (m), 7,99-8,04 (m), 7,76-7,84 (m), 6,56-6,68 (m), 6,12-6,21 (m), 5,12-5,21 (m), 4,87-4,99 (m), 4,69-4,79 (m), 4,49-4,67 (m), 3,98-4,06 (m), 3,80-3,87 (m), 3,64-3,76 (m), 3,55-3,64 (m), 3,47-3,54 (m), 3,39-3,46 (m), 3,26-3,39 (m), 3,22-3,25 (m), 3,18-3,22 (m), 3,06-3,14 (m), 2,98-3,01 (m), 2,55-2,57 (m), 2,42-2,49 (m), 2,11-2,38 (m), 2,09 (s), 1,78-1,97 (m), 1,72-1,77 (m), 1,51-1,71 (m), 1,24-1,36 (m), 1,07 (dd), 0,83-1,03 (m), 0,75-0,82 (m). HPLC (Protocolo T): *m/z* 704,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,48 minutos (pureza = 100 %).

30 **Preparación de (2*S*)-*N*-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida, sal formiato (**n.º 188**), y (2*R*)-*N*-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida, sal formiato (**n.º 190**) y Ejemplo de Referencia *N*-2-~{[(3*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil}-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 192**) y Ejemplo de Referencia *N*-2-~{[(3*S*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil}-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 194**).**



40 **Etapa 1A.** Síntesis de (2*S*)-2-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (**n.º 187**). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de **n.º 86** (280 mg, 0,4 mmol, 1 equiv.), **n.º 156** (100 mg, 0,4 mmol, 1 equiv.), diclorometano (5 ml), HATU (182 mg, 0,48 mmol, 1,2 equiv.) y *N,N*-diisopropiletilamina (100 mg, 0,8 mmol, 2 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0,01 a 0,05 % de metanol en diclorometano) para proporcionar **n.º 187** (220 mg, 62 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo V):

m/z 883,57 [M+H⁺], tiempo de retención = 3,23 minutos (pureza = 95 %).

Etapa 1B. Síntesis de (2R)-2-[[[(2S)-1-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (n.º 189). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de n.º 86 (400 mg, 0,6 mmol, 1 equiv.), n.º 157 (146 mg, 0,6 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml), HATU (259 mg, 0,72 mmol, 1,2 equiv.) y *N,N*-diisopropiletilamina (158 mg, 1,2 mmol, 2 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 0,01 a 0,05 % de metanol en diclorometano) para proporcionar n.º 189 (220 mg, 37 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo W): m/z 883,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 4,12 minutos (pureza = 95 %).

Etapa 1C. Síntesis de (3R)-3-fluoro-3-[[[(2S)-1-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]pirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo (n.º 191). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de n.º 86 (300 mg, 0,45 mmol, 1 equiv.), n.º 168 (106 mg, 0,45 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml), HATU (194 mg, 0,54 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (117 mg, 0,9 mmol, 2 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento P*) para proporcionar n.º 191 (159 mg, 40 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo X): m/z 873,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 3,32 minutos (pureza = 99 %).

Etapa 1D. Síntesis de (3S)-3-fluoro-3-[[[(2S)-1-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]pirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo (n.º 193). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de n.º 86 (300 mg, 0,45 mmol, 1 equiv.), n.º 169 (106 mg, 0,45 mmol, 1 equiv.), diclorometano (10 ml), HATU (194 mg, 0,54 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (117 mg, 0,9 mmol, 2 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento P*) para proporcionar n.º 193 (149 mg, 37 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo X): m/z 873,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 3,34 minutos (pureza = 98 %).

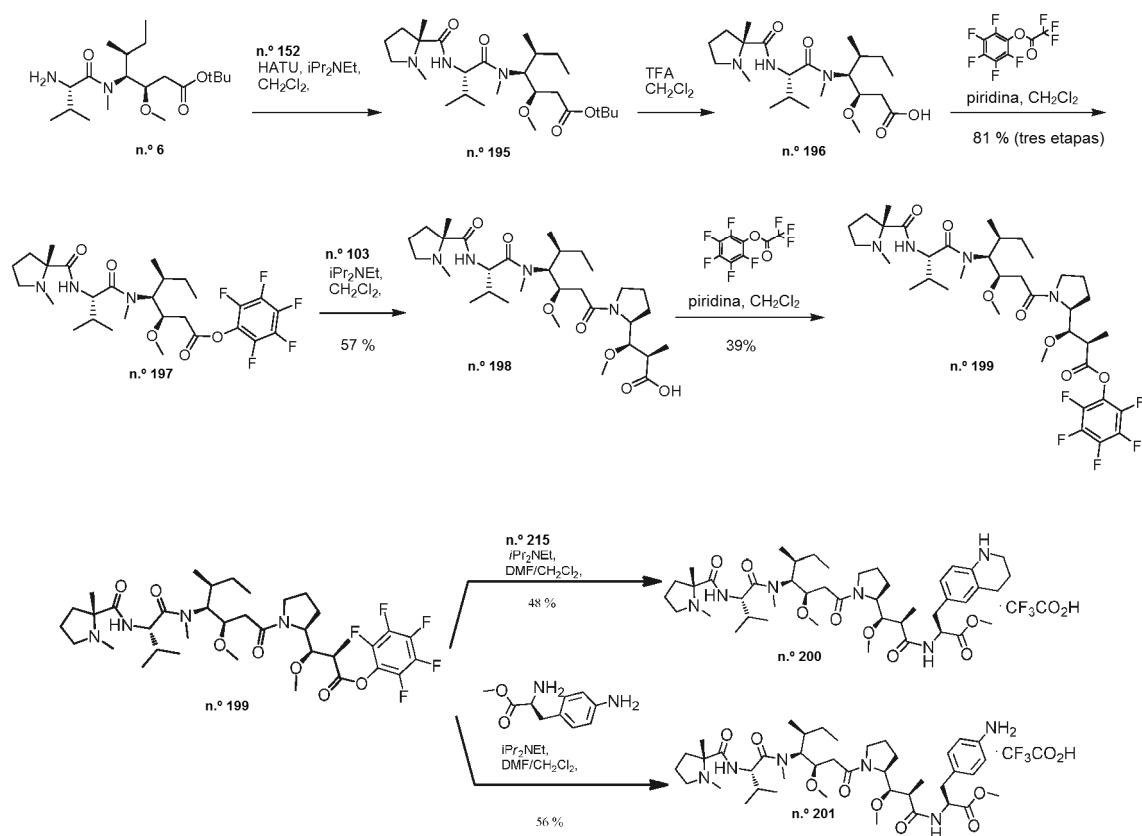
Etapa 2A. Síntesis de (2S)-*N*-[[[(2S)-1-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida, sal de ácido fórmico (n.º 188). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de n.º 187 (20 mg, 0,023 mmol, 1 equiv.), diclorometano (0,1 ml), acetonitrilo (0,1 ml) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (0,26 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento N**) para obtener n.º 188 (11,6 mg, 61 %); HPLC (Protocolo T): m/z 783,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,53 minutos (pureza = 96 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,82-8,87 (m), 8,60-8,63 (m), 8,26-8,29 (m), 7,84-7,90 (m), 7,75-7,81 (m), 7,60-7,67 (m), 7,21-7,31 (m), 7,14-7,19 (m), 5,49-5,55 (m), 5,37-5,42 (m), 4,69-4,75 (m), 4,59-4,65 (m), 4,50-4,56 (m), 3,95-4,01 (m), 3,77-3,82 (m), 3,54-3,61 (m), 3,47-3,53 (m), 3,24-3,45 (m), 3,14-3,23 (m), 3,03-3,08 (m), 2,96-3,03 (m), 2,78-2,80 (m), 2,64-2,73 (m), 2,60-2,62 (m), 2,47-2,56 (m), 2,31-2,45 (m), 2,13-2,28 (m), 2,00-2,07 (m), 1,92-1,99 (m), 1,71-1,86 (m), 1,58-1,70 (m), 1,50-1,56 (m), 1,38-1,49 (m), 1,15-1,36 (m), 1,08-1,14 (m), 1,03-1,07 (m), 0,90-1,02 (m), 0,83-0,90 (m), 0,73-0,80 (m), 0,70-0,73 (m).

Etapa 2B. Síntesis de (2R)-*N*-[[[(2S)-1-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]-2-metilpiperidin-2-carboxamida, sal de ácido fórmico (n.º 190). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de n.º 189 (20 mg, 0,022 mmol, 1 equiv.), diclorometano (0,1 ml), acetonitrilo (0,1 ml) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (0,26 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento N**) para obtener n.º 190 (13,2 mg, 73 %), HPLC (Protocolo T): m/z 783,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,5 minutos (pureza = 100 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,83-8,86 (m), 8,60-8,62 (m), 8,24-8,27 (m), 7,83-7,89 (m), 7,78-7,80 (m), 7,75-7,77 (m), 7,64-7,66 (m), 7,60-7,63 (m), 7,20-7,31 (m), 7,13-7,19 (m), 5,49-5,55 (m), 5,36-5,42 (m), 4,65-4,74 (m), 4,60-4,65 (m), 4,50-4,56 (m), 3,95-4,01 (m), 3,76-3,81 (m), 3,53-3,62 (m), 3,47-3,52 (m), 3,22-3,45 (m), 3,14-3,21 (m), 2,97-3,05 (m), 2,93-2,96 (m), 2,79-2,86 (m), 2,76-2,78 (m), 2,65-2,68 (m), 2,48-2,56 (m), 2,37-2,43 (m), 2,29-2,35 (m), 2,17-2,27 (m), 2,04-2,11 (m), 1,93-2,00 (m), 1,70-1,85 (m), 1,53-1,69 (m), 1,36-1,48 (m), 1,28-1,36 (m), 1,13-1,26 (m), 1,08-1,12 (m), 0,98-1,07 (m), 0,91-0,97 (m), 0,84-0,91 (m), 0,73-0,78 (m).

Etapa 2C. Síntesis de *N*-2-[[[(3R)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*N*-[[[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (n.º 192). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de n.º 191 (10 mg, 0,011 mmol, 1 equiv.), diclorometano (0,1 ml), acetonitrilo (0,1 ml) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (0,13 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) para obtener n.º 192 (5,1 mg, 60 %), HPLC (Protocolo T): m/z 773,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,43 minutos (pureza = 100 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,32-9,44 (m), 9,17-9,21 (m), 8,91 (d), 8,63-8,69 (m), 8,38-8,43 (m), 8,22-8,27 (m), 7,80 (dd), 7,66 (dd), 7,14-7,33 (m), 5,49-5,57 (m), 5,37-5,45 (m), 4,10-4,78 (m), 3,97-4,06 (m), 3,77-3,83 (m), 3,33-3,65 (m), 3,15-3,29 (m), 2,95-3,09 (m), 2,82-2,83 (m), 2,67-2,71 (m), 2,55-2,57 (m), 2,32-2,54 (m), 2,10-2,31 (m), 2,09 (s), 1,72-1,90 (m), 1,57-1,72 (m), 1,38-1,50 (m), 1,15-1,38 (m), 1,09 (dd), 0,85-1,0 (m), 0,75-0,83 (m).

Etapa 2D. Síntesis de *N*-2-~-[[(3*S*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-~[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-~[(1*S*)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 194**). De acuerdo con el procedimiento general C, a partir de **n.º 193** (10 mg, 0,011 mmol, 1 equiv.), diclorometano (0,1 ml), acetonitrilo (0,1 ml) y una solución 4 M de ácido clorhídrico en dioxano (0,13 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) para obtener **n.º 194** (9 mg, 93 %), HPLC (Protocolo T): *m/z* 773,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,42 minutos (pureza = 100 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,39-9,52 (m), 9,21-9,35 (m), 8,90 (d), 8,63-8,69 (m), 8,42-8,48 (m), 8,29 -8,34 (m), 7,80 (dd), 7,66 (dd), 7,22-7,33 (m), 7,13-7,21 (m), 5,47-5,57 (m), 5,36-5,44 (m), 4,43-4,93 (m), 3,97-4,05 (m), 3,64-3,83 (m), 3,32-3,61 (m), 3,15-3,29 (m), 3,06-3,09 (m), 2,95-3,05 (m), 2,89-2,95 (m), 2,82-2,84 (m), 2,67-2,72 (m), 2,54-2,56 (m), 2,48-2,53 (m), 2,28-2,48 (m), 2,11-2,28 (m), 2,09 (s), 1,57-1,72 (m), 1,38-1,47 (m), 1,15-1,37 (m), 1,09 (dd), 0,85-0,99 (m), 0,78 (t).

Preparación de 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-~[(2*S*)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida, sal formiato (n.º 200**), y 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-~[(2*S*)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida, sal formiato (**n.º 201**).**



Etapa 1. Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-*terc*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 195**). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de **n.º 6** (7,75 g, 21,6 mmol, 1 equiv.), **n.º 152** (3,88 g, 21,6 mmol, 1 equiv.), diclorometano (100 ml), HATU (9,8 g, 25,9 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (11,1 g, 86,4 mmol, 4 equiv.) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 20 a 55 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar **n.º 195** (11,1 g, rendimiento cuantitativo) en forma de un aceite de color amarillo.

Etapa 2. Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(2*R*,3*S*,4*S*)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 196**). De acuerdo con el procedimiento general B, a partir de **n.º 195** (11,1 g, 21,6 mmol, 1 equiv.), diclorometano (100 ml) y ácido trifluoroacético (40 ml), se sintetizó el material en bruto deseado, para obtener **n.º 196** (10,1 g, rendimiento cuantitativo) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. CL-EM (Protocolo Z): *m/z* 428,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,9 minutos.

Etapa 3. Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-1-oxo-1-(pentafluorofenoxi)heptan-4-il]-*N*-metil-*L*-valinamida (**n.º 197**). A una solución enfriada (0 °C) de **n.º 196** (4,0 g, 9,4 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (40 ml) se añadió gota a gota piridina (2,95 g, 37,6 mmol, 4 equiv.), seguido de una solución de trifluoroacetato de pentafluorofenilo (3,9 g, 13,6 mmol, 1,4 equiv.) en diclorometano (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente

durante una hora y el disolvente se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 1 a 10 % de metanol en diclorometano) para proporcionar el compuesto **n.º 197** (4,5 g, 81,2 % (en tres etapas) en forma de un sólido de color blanco.

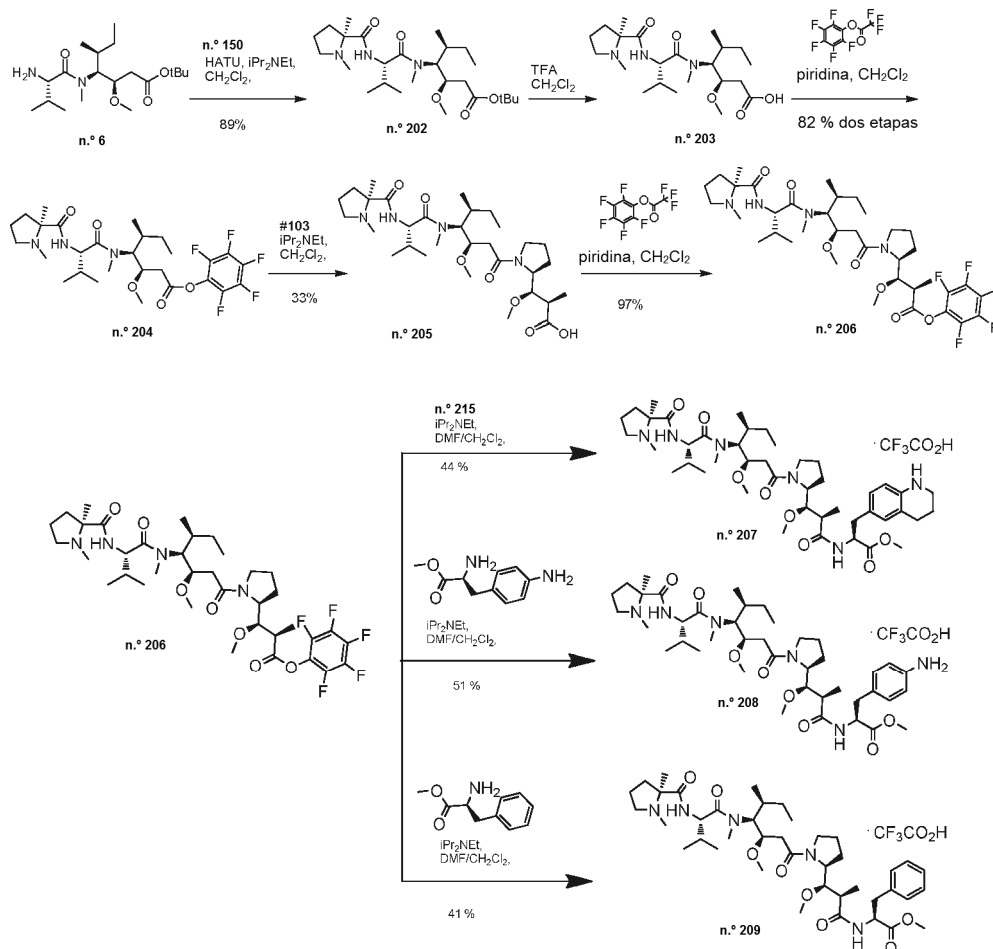
5 **Etapa 4.** Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 198**). A una solución enfriada (0 °C) de **n.º 197** (4,0 g, 7,4 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (25 ml) se añadió gota a gota diisopropiletilamina (3,4 g, 26,3 mmol, 3,5 equiv.), seguido de una solución de **n.º 103** (2,3 g, 7,6 mmol, 1,02 equiv.) en diclorometano (15 ml). Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 1 a 10 % de metanol en diclorometano), seguido de una segunda purificación por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento Q*) para dar **n.º 198** (1,57 g, 57,5 %) en forma de un sólido de color blanco HPLC (Protocolo X): *m/z* 597,49 [M+H⁺]; tiempo de retención = 8,879 minutos (pureza = 98 %). tiempo de retención de HPLC quiral: 3,328 min (pureza = 98 %); Columna: Columna: Chiralcel OJ-H, 250 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil: metanol (0,05 % de dietilamina) en CO₂ del 5 % al 40 % durante 15 minutos; Caudal: 2,35 ml/minuto.

15 **Etapa 5.** Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(pentafluorofenoxi)propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (**n.º 199**). A una solución de **n.º 198** (280 mg, 0,394 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (2 ml) se añadió piridina (75 mg, 0,94 mmol, 2,4 equiv.), seguido de una solución de trifluoroacetato de pentafluorofenilo (268 mg, 0,94 mmol, 2,4 equiv.) en diclorometano (1,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas y el disolvente se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 1 a 10 % de metanol en diclorometano) para proporcionar el compuesto **n.º 199** (279 mg, 39 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 763,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,93 minutos.

25 **Etapa 6A.** Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-((2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-(1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)propan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 200**). A una mezcla de **n.º 199** (25 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) y **n.º 215** ((7,7 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (1,5 ml), se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (30,2 mg, 2,31 mmol, 7 equiv.). La reacción se agitó durante 5 minutos y se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml). Después de agitar durante 2 ½ horas, se añadió más cantidad de *N,N*-diisopropiletilamina (30,2 mg, 2,31 mmol, 7 equiv.). Después de 3 ½ horas, se añadió más *N,N*-dimetilformamida (0,75 ml) y la mezcla se agitó durante 18 horas. Se añadieron más cantidades de *N,N*-diisopropiletilamina (15,1 mg, 1,15 mmol, 3,6 equiv.) y *N,N*-dimetilformamida (0,25 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) para dar **n.º 200** (12,9 mg, 48 %). HPLC (Protocolo T): *m/z* HPLC (*Protocolo T*): *m/z* 407,7, doble carga [2+], tiempo de retención = 1,69 minutos (pureza = 100 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,72-9,82 (m), 8,61-8,67 (m), 8,42-8,48 (m), 8,19-8,24 (m), 7,25-7,27 (m), 7,12-7,14 (m), 6,94-7,01 (m), 6,88-6,94 (m), 6,78-6,84 (m), 6,67-6,74 (m), 6,57-6,64 (m), 4,69-4,77 (m), 4,60-4,68 (m), 4,53-4,60 (m), 4,46-4,53 (m), 4,37-4,45 (m), 3,97-4,05 (m), 3,76-3,81 (m), 3,62-3,67 (m), 3,53-3,62 (m), 3,44-3,52 (m), 3,32-3,38 (m), 3,27-3,32 (m), 3,22-3,27 (m), 3,15-3,22 (m), 3,06-3,14 (m), 2,97-3,01 (m), 2,92-2,96 (m), 2,74-2,83 (m), 2,61-2,74 (m), 2,57-2,61 (m), 2,48-2,56 (m), 2,37-2,46 (m), 2,25-2,36 (m), 2,00-2,20 (m), 1,67-1,91 (m), 1,47-1,60 (m), 1,37-1,47 (m), 1,24-1,35 (m), 1,03-1,10 (m), 0,95-1,00 (m), 0,88-0,94 (m), 0,76-0,83 (m).

35 **Etapa 6B.** Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 201**). A una mezcla de **n.º 199** (25 mg, 0,033 mmol, 1equiv.) y el 4-amino-L-fenilalaninato de metilo disponible en el mercado (8,8 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (1,5 ml), se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (30,2 mg, 2,31 mmol, 7 equiv.). La reacción se agitó durante 5 minutos y se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml). Después de 4 horas, se añadió más cantidad de *N,N*-diisopropiletilamina (37,75 mg, 2,88 mmol, 8,25 equiv.) y la mezcla se agitó durante 50 minutos. Se añadió más cantidad de *N,N*-dimetilformamida (0,75 ml) y la reacción se agitó durante 66 horas, se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (*Procedimiento M**) para dar **n.º 201** (14,3 mg, 56 %); HPLC (Protocolo T): *m/z* 387,2, doble carga [2+], tiempo de retención = 1,50 minutos (pureza= 100 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 9,68-9,84 (m), 8,57-8,66 (m), 8,46-8,51 (m), 8,23-8,29 (m), 7,18-7,28 (m), 7,11-7,16 (m), 7,03-7,08 (m), 6,97-7,02 (m), 4,67-4,75 (m), 4,58-4,66 (m), 4,34-4,57 (m), 3,95-4,03 (m), 3,85-3,90 (m), 3,73-3,81 (m), 3,66-3,72 (m), 3,57-3,66 (m), 3,50-3,57 (m), 3,42-3,49 (m), 3,32-3,38 (m), 3,14-3,30 (m), 2,95-3,11 (m), 2,84-2,94 (m), 2,78-2,81 (m), 2,63-2,74 (m), 2,46-2,57 (m), 2,34-2,45 (m), 2,19-2,34 (m), 1,97-2,19 (m), 1,67-1,90 (m), 1,45-1,62 (m), 1,34-1,41 (m), 1,21-1,34 (m), 1,01-1,10 (m), 0,82-0,99 (m), 0,72-0,81 (m).

55 **Preparación de 1,2-dimetil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-((2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-(1,2,3,4-tetrahydroquinolin-6-il)propan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal formiato (**n.º 207**), y 1,2-dimetil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-((2*S*)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal formiato (**n.º 208**), y 1,2-dimetil-L-prolil-*N*-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-1-((2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-1-metoxi-3-((2*S*)-1-metoxi-1-oxo-3-fenil-propan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 209**)**



- 5 **Etapa 1.** Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-*terc*-butoxi-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 202). De acuerdo con el procedimiento general D, a partir de n.º 6 (4,3 g, 12 mmol, 1 equiv.), n.º 150 (2,15 g, 12 mmol, 1 equiv.), diclorometano (50 ml), HATU (5,46 g, 14 mmol, 1,2 equiv.) y diisopropiletilamina (8,17 ml) se sintetizó el material en bruto deseado, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 20 a 55 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar n.º 202 (5,2 g, 89 %) en forma de un aceite de color amarillo.
- 10 **Etapa 2.** Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(2R,3S,4S)-1-carboxi-2-metoxi-4-metilhexan-3-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 203). De acuerdo con el procedimiento general B, a partir de n.º 202 (5,2 g, 10,77 mmol, 1 equiv.), diclorometano (45 ml) y ácido trifluoroacético (20 ml), se sintetizó el material en bruto deseado, para obtener n.º 203 (7 g, rendimiento cuantitativo) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.
- 15 **Etapa 3.** Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-5-metil-1-oxo-1-(pentafluorofenoxi)heptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 204). A una solución enfriada (0 °C) de n.º 203 (7,0 g, 10,77 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (15 ml), se añadió gota a gota piridina (3,41 g 43,08 mmol, 4 equiv.), seguido de una solución de trifluoroacetato de pentafluorofenilo (6,03 g, 21,54 mmol, 2 equiv.) en diclorometano (7 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora y el disolvente se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 1 a 10 % de metanol en diclorometano) para proporcionar el compuesto n.º 204 (8 g, 82 % en dos etapas) en forma de un sólido de color amarillo.
- 20 **Etapa 4.** Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-2-carboxi-1-metoxipropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (n.º 205). A una solución enfriada (0 °C) de n.º 204 (8,0 g, 10,77 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (25 ml) se añadió gota a gota diisopropiletilamina (5,6 g, 43,08 mmol, 4 equiv.), seguido de una solución de n.º 103 (3,22 g, 10,77 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (15 ml). Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas y el disolvente se retiró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 1 a 10 % de metanol en diclorometano) para dar n.º 205 (2,2 g, 33 %) en forma de un sólido de color amarillo HPLC (Protocolo X): *m/z* 597,42 [M+H⁺], tiempo de retención = 8,729 minutos (pureza > 97 %), tiempo de retención de HPLC quiral: 2,87 min (pureza = 89 %); Columna: Chiralcel OD-3, 150 x 4,6 mm, 3 µm; Fase móvil: etanol (0,05 % de dietilamina) en CO₂ del 5 % al 40 % durante 12 minutos; Caudal: 2,5 ml/minuto.
- 25

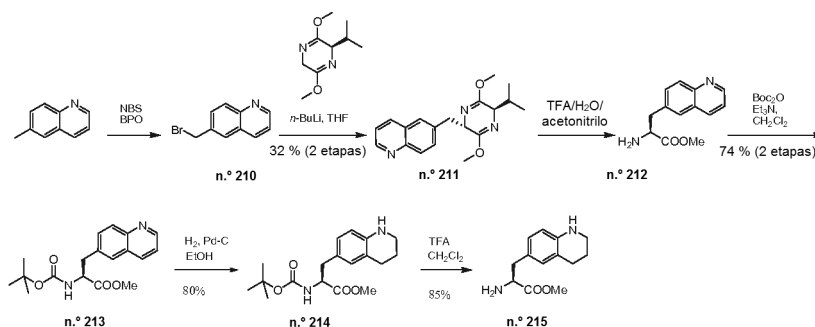
Etapa 5. Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(pentafluorofenoxi)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**n.º 206**). A una solución de **n.º 198** (0,28 g, 0,47 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (2 ml) se añadió piridina (75 mg, 0,94 mmol, 2 equiv.), seguido de una solución de trifluoroacetato de pentafluorofenilo (268 mg, 0,94 mmol, 2 equiv.) en diclorometano (1,5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas y el disolvente se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (Gradiente: de 1 a 10 % de metanol en diclorometano) para proporcionar el compuesto **n.º 206** (348 mg, 97 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (protocolo Q1): m/z 763,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,9 minutos.

Etapa 6A. Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-(1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)propan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 207**). El compuesto del título se preparó a partir de **n.º 206** (25 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) y **n.º 215** (7,7 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) usando el procedimiento descrito anteriormente para la preparación de **n.º 200**. El producto en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento M*) para dar **n.º 207** (11,7 mg, 44 %). HPLC (Protocolo T): m/z 407,6, doble carga [2+], tiempo de retención = 1,59 minutos (pureza = 100 %). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 9,57-9,69 (m), 8,68-8,76 (m), 8,42-8,47 (m), 8,23-8,29 (m), 8,18-8,23 (m), 7,24-7,27 (m), 6,95-7,01 (m), 6,89-6,94 (m), 6,80-6,86 (m), 6,70-6,78 (m), 6,60-6,67 (m), 4,69-4,77 (m), 4,60-4,68 (m), 4,46-4,60 (m), 4,34-4,46 (m), 3,95-4,03 (m), 3,87-3,91 (m), 3,79-3,85 (m), 3,74-3,79 (m), 3,60-3,66 (m), 3,49-3,60 (m), 3,41-3,49 (m), 3,12-3,35 (m), 3,04-3,12 (m), 2,89-3,04 (m), 2,68-2,83 (m), 2,61-2,67 (m), 2,45-2,55 (m), 2,34-2,44 (m), 2,08-2,33 (m), 2,05-2,08 (m), 1,92-2,05 (m), 1,75-1,91 (m), 1,65-1,75 (m), 1,59-1,64 (m), 1,34-1,58 (m), 1,20-1,31 (m), 1,01-1,09 (m), 0,94-0,99 (m), 0,84-0,93 (m), 0,80-0,83 (m), 0,72-0,80 (m).

Etapa 6B. Síntesis de sal de ácido trifluoroacético de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-(4-aminofenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**n.º 208**). A una mezcla de **n.º 206** (25,0 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.), y el 4-amino-L-fenilalaninato de metilo disponible en el mercado (8,8 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (1,5 ml), se añadió *N,N*-diisopropiletilamina (30,2 mg, 2,31 mmol, 7 equiv.). La reacción se agitó durante 5 minutos y se añadió *N,N*-dimetilformamida (0,5 ml). Después de 2 ½ horas, se añadió más cantidad de *N,N*-diisopropiletilamina (30,2 mg, 2,31 mmol, 7 equiv.). Después de agitar durante 3 1/2 horas, se añadió más cantidad de *N,N*-dimetilformamida (0,75 ml) y la reacción se agitó durante 66 horas, se concentró al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento M*) para dar **n.º 208** (13 mg, 51 %); HPLC (Protocolo T): m/z 387,2, doble carga [2+], tiempo de retención = 1,58 minutos (pureza= 100 %); RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 9,54-9,69 (m), 8,68-8,75 (m), 8,46-8,50 (m), 8,33-8,37 (m), 8,22-8,31 (m), 8,09-8,14 (m), 7,17-7,27 (m), 7,07-7,16 (m), 6,99-7,05 (m), 6,92-6,99 (m), 4,69-4,75 (m), 4,60-4,68 (m), 4,42-4,59 (m), 4,34-4,42 (m), 3,95-4,03 (m), 3,85-3,90 (m), 3,74-3,80 (m), 3,65-3,72 (m), 3,62-3,65 (m), 3,42-3,62 (m), 3,31-3,36 (m), 3,24-3,30 (m), 3,11-3,24 (m), 3,03-3,11 (m), 2,96-3,03 (m), 2,81-2,92 (m), 2,65-2,76 (m), 2,43-2,55 (m), 2,34-2,43 (m), 2,06-2,33 (m), 1,93-2,05 (m), 1,75-1,89 (m), 1,66-1,74 (m), 1,58-1,65 (m), 1,47-1,57 (m), 1,34-1,43 (m), 1,20-1,32 (m), 1,10-1,14 (m), 1,00-1,09 (m), 0,83-0,99 (m), 0,72-0,81 (m).

Etapa 6C. Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 209**). El compuesto del título se preparó a partir de **n.º 206** (25,0 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) y clorhidrato de L-fenilalaninato de metilo (7,1 mg, 0,033 mmol, 1 equiv.) usando el procedimiento descrito anteriormente para la preparación de **n.º 200**. El producto en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento M*) para dar **n.º 209** (10,3 mg, 41 %). HPLC (Protocolo T): m/z 758,7 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,787 minutos (pureza = 100 %). RMN ¹H (DMSO-d₆) δ 9,57-9,70 (m), 8,70-8,75 (m), 8,50-8,56 (m), 8,32-8,42 (m), 8,24-8,26 (m), 8,10-8,15 (m), 7,14-7,27 (m), 7,12-7,13 (m), 6,98-7,00 (m), 4,69-4,77 (m), 4,55-4,67 (m), 4,43-4,53 (m), 3,94-4,02 (m), 3,73-3,78 (m), 3,62-3,68 (m), 3,48-3,60 (m), 3,39-3,48 (m), 3,23-3,33 (m), 3,13-3,22 (m), 3,08-3,13 (m), 3,02-3,08 (m), 2,96-3,01 (m), 2,81-2,94 (m), 2,76-2,80 (m), 2,66-2,75 (m), 2,62-2,66 (m), 2,46-2,55 (m), 2,31-2,45 (m), 2,09-2,29 (m), 2,05-2,09 (m), 1,93-2,04 (m), 1,74-1,88 (m), 1,65-1,74 (m), 1,59-1,65 (m), 1,36-1,52 (m), 1,21-1,35 (m), 1,01-1,08 (m), 0,94-1,00 (m), 0,83-0,94 (m), 0,73-0,81 (m).

Preparación de (2S)-2-amino-3-(1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)propanoato de metilo



Etapa 1. Síntesis de 6-(bromometil)quinolina (**n.º 210**). Una solución de 6-metilquinolina (5 g, 35 mmol, 1 equiv.), *N*-bromosuccinimida (8,1 g, 45,5 mmol, 1,3 equiv.) y peróxido de benzoilo (840 mg, 3,5 mmol, 0,1 equiv.) en tetracloruro de carbono (100 ml) se agitó a la temperatura de reflujo durante 3 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se disolvió en tetrahidrofurano (100 ml) y se filtró. El filtrado se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Etapa 2. Síntesis de 6-[[*(2S,5R)*-3,6-dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazin-2-il]metil]quinolina (**n.º 211**). A una solución enfriada (-70 °C) de (*2R*)-3,6-dimetoxi-2-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina (25,8 g, 140 mmol, 2 equiv.) en tetrahidrofurano (200 ml) se añadió gota a gota *n*-butillitio (2,5 M, 64,4 ml, 161 mmol, 2,3 equiv.) y después se agitó durante 30 minutos. Una solución de **n.º 210** (15,4 g, 70 mmol, 1 equiv.) en tetrahidrofurano (150 ml) se añadió gota a gota a -65 °C y después la solución se agitó durante 2 horas a esta temperatura. La reacción se interrumpió con cloruro de amonio acuoso saturado (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (Gradiente: de 10 a 16 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar **n.º 211** (7,3 g, 32 %, en dos etapas) en forma de un sólido de color amarillo. CL-EM (Protocolo Z): *m/z* 326,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,88 minutos.

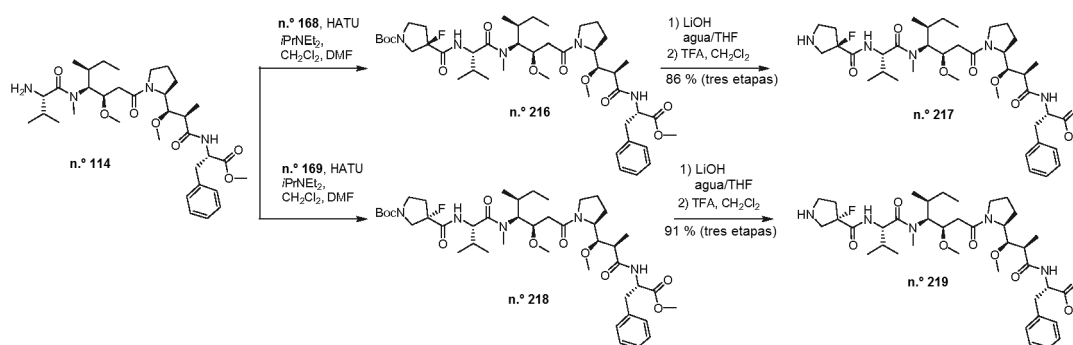
Etapa 3. Síntesis de (*2S*)-2-amino-3-(quinolin-6-il)propanoato de metilo (**n.º 212**). A una solución de **n.º 211** (7,3 g, 22,5 mmol, 1 equiv.) en agua (25 ml) y acetonitrilo (80 ml) se añadió ácido trifluoroacético (9 ml) a 0 °C y la solución se agitó a 10 °C durante una noche. La fase orgánica se retiró al vacío y la fase acuosa restante se basificó a pH 9 con carbonato sódico, que se usó directamente para la siguiente etapa.

Etapa 4. Síntesis de (*2S*)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-(quinolin-6-il)propanoato de metilo (**n.º 213**). A una solución de **n.º 212** (5,2 g, 22,5 mmol, 1 equiv.) y trietilamina (9,1 g, 90 mmol, 4 equiv.) en un disolvente mixto de metanol (30 ml) y agua (50 ml) se añadió dicarbonato de di-*tert*-butilo (17,5 g, 78,75 mmol, 3,5 equiv.) a 0 °C y después la solución se agitó a 10 °C durante una noche. La mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con metanol (20 ml x 2). El filtrado se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 2) y la fase orgánica se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (Gradiente: de 25 a 50 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar **n.º 213** (5,5 g, 74 % en dos etapas) en forma de un aceite de color amarillo. CL-EM (Protocolo Z): *m/z* 331,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,76 minutos.

Etapa 5. Síntesis de (*2S*)-2-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-3-(1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)propanoato de metilo (**n.º 214**). Una suspensión de **n.º 213** (1,5 g, 4,55 mmol, 1 equiv.) y paladio sobre carbono (150 mg) en etanol (20 ml) se agitó a 50 °C en una atmósfera de 0,21 MPa (30 psi) de hidrógeno durante una noche. La mezcla de reacción se filtró a través de una capa de celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna de sílice (Gradiente: 40 % de acetato de etilo en éter de petróleo) para proporcionar **n.º 214** (1,2 g, 80 %) en forma de un aceite. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 6,70 (d, 2H), 6,40 (m, 1H), 4,95 (m, 1H), 4,49 (m, 1H), 3,77 (s, 3H), 3,28 (m, 2H), 2,97 (m, 2H), 2,71 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,26 (s, 9H), HPLC (Protocolo Y): *m/z* 357,0 [M+Na⁺]; tiempo de retención = 5,304 minutos (pureza >98 %), tiempo de retención de HPLC quiral: 4,64 min (pureza = 98 %) (Columna: Chiralcel OJ-H, 150 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil: etanol (0,05 % de dietilamina) en CO₂ del 5 % al 40 % durante 15 minutos; Caudal: 2,5 ml/minuto).

Etapa 6. Síntesis de (*2S*)-2-amino-3-(1,2,3,4-tetrahidroquinolin-6-il)propanoato de metilo (**n.º 215**). A una solución de **n.º 214** (750 mg, 2,25 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (20 ml) se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (2 ml) a 0 °C y después la solución se agitó a 20 °C durante una noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se disolvió en agua (20 ml). La solución se basificó con carbonato sódico y se extrajo con acetato de etilo/tetrahidrofurano (30 ml x 3). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se concentró al vacío para proporcionar **n.º 215** (450 mg, 85 %) en forma de un aceite de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 6,70 (d, 2H), 6,40 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,67 (m, 1H), 3,30 (m, 2H), 2,96 (m, 1H), 2,75 (m, 3H), 1,96 (m, 2H), 1,50 (a, 2H), 1,26 (a, 1H). HPLC (Protocolo Y): *m/z* 235,14 [M+H⁺]; tiempo de retención = 4,35 minutos (pureza > 96 %). tiempo de retención de HPLC quiral: 5,71 min (pureza = 98 %). (Columna: Chiralcel OJ-H, 150 x 4,6 mm, 5 µm; Fase móvil: etanol (0,05 % de dietilamina) en CO₂ del 5 % al 40 % durante 15 minutos; Caudal: 2,5 ml/minuto).

Preparación de Ejemplo de Referencia de *N*-{[(*2R,3R*)-3-[(*2S*)-1-[(*3R,4S,5S*)-4-[(*N*-[(*3R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (n.º 217**), y Ejemplo de Referencia de *N*-{[(*2R,3R*)-3-[(*2S*)-1-[(*3R,4S,5S*)-4-[(*N*-[(*3S*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 219**).**



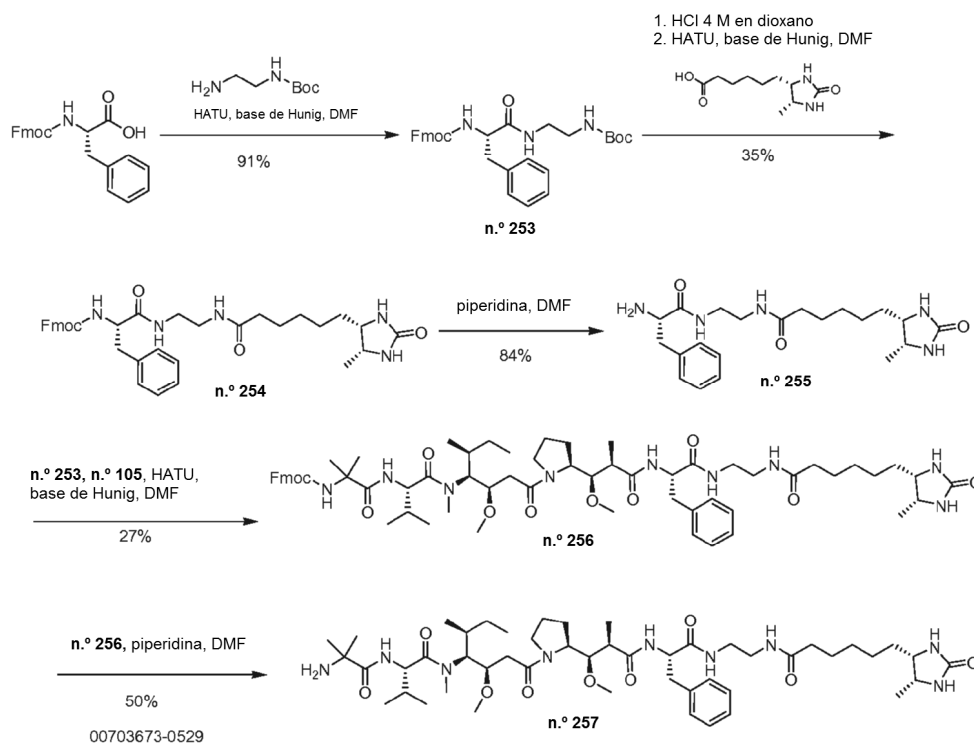
Etapa 1A. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-[(3*R*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-3-fluoro-pirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo (**n.º 216**). A una solución de **n.º 168** (36,9 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) y **n.º 114** (100 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (3,6 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,8 ml), se añadió diisopropiletilamina (0,083 ml, 0,474 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (60,7 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 18 horas, se diluyó con acetato de etilo (25 ml), se lavó con agua (1x), ácido cítrico al 10 % (1x) y salmuera (1x). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el filtrado se concentró al vacío para dar **n.º 216** en bruto (220 mg, 164 % del teórico) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. HPLC (protocolo Q): *m/z* 848,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,10 minutos.

Etapa 1B. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-[(3*S*)-1-(*tert*-butoxicarbonil)-3-fluoro-pirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalaninato de metilo (**n.º 218**). A una solución de **n.º 169** (36,9 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) y **n.º 114** (100 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (3,6 ml) y *N,N*-dimetilformamida (0,8 ml), se añadió diisopropiletilamina (0,083 ml, 0,474 mmol, 3 equiv.), seguido de HATU (60,7 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 18 horas, se diluyó con acetato de etilo (25 ml), se lavó con agua (1x), ácido cítrico al 10 % (1x) y salmuera (1x). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el filtrado se concentró al vacío para proporcionar **n.º 218** en bruto (180 mg, 134 % del teórico) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. HPLC (protocolo Q): *m/z* 848,6 [M+H⁺], tiempo de retención = 2,10 minutos.

Etapa 2A. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-[(3*R*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 217**). A una solución de **n.º 216** en bruto (134 mg) en tetrahidrofurano (4 ml) se añadió hidróxido de litio (1 M, 0,5 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en diclorometano (2 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (2 ml). La reacción se agitó durante 4 horas y se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento M*) para obtener **n.º 217** (60 mg, 86 % en dos etapas) en forma de una goma. CL-EM (protocolo Q): *m/z* 734,93 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,19 minutos. RMN ¹H (DMSO-*d*₆) 12,62-12,83 (m), 9,30-9,43 (m), 9,17-9,28 (m), 8,34-8,41 (m), 8,22-8,31 (m), 8,08-8,15 (m), 7,87-7,93 (m), 7,76-7,81 (m), 7,11-7,23 (m), 4,93-4,99 (m), 4,81-4,88 (m), 4,55-4,71 (m), 4,48-4,54 (m), 4,37-4,45 (m), 3,92-3,99 (m), 3,69-3,75 (m), 3,31-3,65 (m), 3,25-3,30 (m), 3,20-3,24 (m), 3,12-3,19 (m), 3,08-3,10 (m), 2,97-3,07 (m), 2,92-2,97 (m), 2,75-2,84 (m), 2,64-2,70 (m), 2,43-2,57 (m), 2,28-2,43 (m), 2,15-2,26 (m), 2,02-2,15 (m), 1,56-1,87 (m), 1,31-1,48 (m), 1,05-1,30 (m), 0,97-1,06 (m), 0,82-0,97 (m), 0,71-0,79 (m).

Etapa 2B. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-4-[(*N*-[(3*S*)-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-*L*-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalanina, sal de ácido trifluoroacético (**n.º 219**). A una solución de **n.º 218** en bruto (100 mg) en tetrahidrofurano (4 ml) se añadió hidróxido de litio 1,0 M en agua (0,5 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas y después se concentró al vacío. El material en bruto se disolvió en diclorometano (2 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (2 ml). La reacción se agitó durante 4 horas y después se concentró al vacío. El material en bruto se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento M*) para obtener **n.º 219** en forma de una goma (60 mg, 91 % en dos etapas). CL-EM (protocolo Q): *m/z* 734,97 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,14 minutos. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) 12,62-12,85 (m), 9,32-9,43 (m), 9,13-9,26 (m), 8,39-8,46 (m), 8,30-8,39 (m), 8,25-8,29 (m), 8,08-8,13 (m), 7,79-7,85 (m), 7,67-7,72 (m), 7,10-7,23 (m), 4,94-5,01 (m), 4,83-4,89 (m), 4,64-4,73 (m), 4,56-4,63 (m), 4,44-4,50 (m), 4,37-4,44 (m), 3,92-3,99 (m), 3,60-3,74 (m), 3,24-3,55 (m), 3,11-3,24 (m), 3,07-3,10 (m), 3,02-3,06 (m), 2,98-3,02 (m), 2,93-2,97 (m), 2,75-2,85 (m), 2,68-2,69 (m), 2,63-2,67 (m), 2,45-2,55 (m), 2,26-2,44 (m), 2,15-2,25 (m), 2,03-2,14 (m), 1,55-1,87 (m), 1,31-1,47 (m), 1,15-1,31 (m), 0,98-1,05 (m), 0,91-0,98 (m), 0,82-0,91 (m), 0,71-0,78 (m).

Preparación de 2-metilalanil-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(3*R*,4*R*,7*S*)-7-bencil-4-metil-18-[(4*S*,5*R*)-5-metil-2-oxoimidazolidin-4-il]-5,8,13-trioxo-2-oxa-6,9,12-triazaoctadecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il}-*N*-metil-L-valinamida (n.º 257).



- 5 **Etapa 1.** Síntesis de [(2*S*)-1-({2-[(*tert* butoxicarbonil)amino]etil)amino}-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]carbamato de 9*H*-fluoren-9-ilmetilo (n.º 253). Siguiendo el procedimiento general D, usando *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*L*-fenilalanina (500 mg, 1,29 mmol, 1,0 equiv.), (2-aminoetil)carbamato de *tert*-butilo (207 mg, 1,29 mmol, 1,0 equiv.), HATU (620 mg, 1,55 mmol, 1,2 equiv.) y base de Hunig (0,452 ml, 2,58 mmol, 2,0 equiv.) en 6 ml de DMF, se produjo n.º 253 en forma de un sólido de color blanco (620 mg, 91 %), después de concentración del disolvente y recristalización usando acetato de etilo. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 552,3 [M+Na⁺], tiempo de retención = 1,01 minutos.

- 15 **Etapa 2.** Síntesis de *N*-alfa-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*-[2-({6-[(4*S*,5*R*)-5-metil-2-oxoimidazolidin-4-il]hexanoil}amino)etil]-*L*-fenilalaninamida (n.º 254). La protección de Boc se retiró usando el procedimiento general C, usando n.º 251 (88 mg, 0,17 mmol, 1,0 equiv.) y HCl 4 M (2,0 ml, 8,0 mmol, 48 equiv.), seguido de concentración al vacío. Después, la reacción de acoplamiento se realizó siguiendo el procedimiento general D, usando un residuo en bruto, ácido 6-[(4*S*,5*R*)-5-metil-2-oxoimidazolidin-4-il]hexanoico (35,6 mg, 0,166 mmol, 1,0 equiv.), HATU (73,2 mg, 0,18 mmol, 1,1 equiv.) y base de Hunig (0,087 ml, 0,50 mmol, 3,0 equiv.) en 2 ml de DMF, seguido de purificación (Procedimiento J), para producir n.º 254 (35 mg, 34 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 626,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,86 minutos.

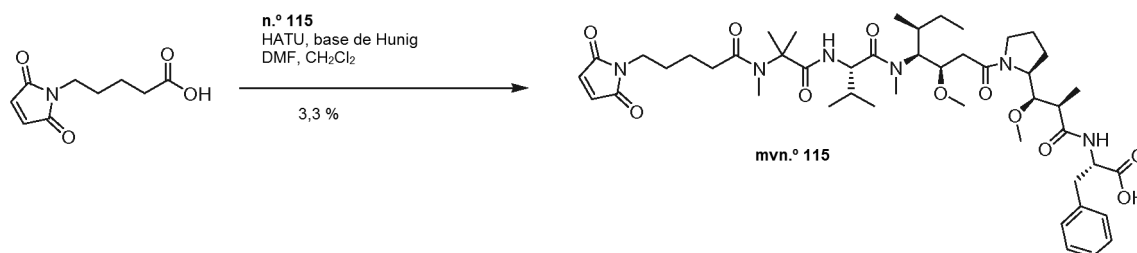
- 20 **Etapa 3.** Síntesis de *N*-[2-({6-[(4*S*,5*R*)-5-metil-2-oxoimidazolidin-4-il]hexanoil}amino)etil]-*L*-fenilalaninamida (n.º 255). Siguiendo el procedimiento general A, usando n.º 254 (35 mg, 0,056 mmol, 1,0 equiv.), piperidina (0,10 ml, 1,0 mmol, 20 equiv.) en 0,5 ml de DMF, seguido de purificación usando cromatografía de sílice (0-30 % de metanol en diclorometano) se obtuvo n.º 255 (19 mg, 84 %). CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 404,2 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,48 minutos.

- 25 **Etapa 4.** Síntesis de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-2-metilalanil-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(3*R*,4*R*,7*S*)-7-bencil-4-metil-18-[(4*S*,5*R*)-5-metil-2-oxoimidazolidin-4-il]-5,8,13-trioxo-2-oxa-6,9,12-triazaoctadecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il}-*N*-metil-L-valinamida (n.º 256). Siguiendo el procedimiento general D, usando n.º 105 (36,6 mg, 0,047 mmol, 1,0 equiv.), n.º 255 (19 mg, 0,047 mmol, 1,0 equiv.), HATU (22,4 mg, 0,056 mmol, 1,2 equiv.) y base de Hunig (0,025 ml, 0,141 mmol) en 1,5 ml de DMF, seguido de purificación (Procedimiento J), se produjo n.º 256 (15 mg, 27 %) en forma de un sólido de color blanco. CL-EM (Protocolo Q1): *m/z* 1164,8 [M+H⁺], tiempo de retención = 0,99 minutos.

- 30 **Etapa 5.** Síntesis de 2-metilalanil-*N*-{(3*R*,4*S*,5*S*)-1-[(2*S*)-2-[(3*R*,4*R*,7*S*)-7-bencil-4-metil-18-[(4*S*,5*R*)-5-metil-2-oxoimidazolidin-4-il]-5,8,13-trioxo-2-oxa-6,9,12-triazaoctadecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il}-*N*-metil-L-valinamida (n.º 257). Siguiendo el procedimiento general A, usando n.º 256 (5 mg, 0,004 mmol, 1,0 equiv.)

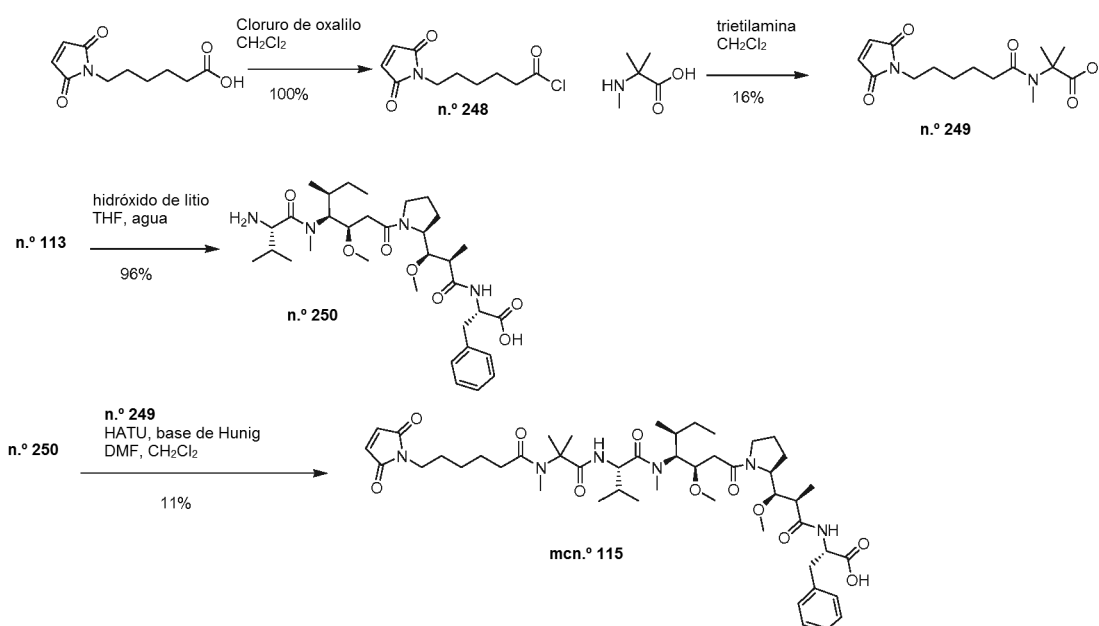
y piperidina (0,02 ml, 0,2 mmol, 50 equiv.) en 0,7 ml de DMF, seguido de purificación (Procedimiento J), se obtuvo **n.º 257** (2 mg, 50 %) en forma de un cristal incoloro. CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1164,8 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 0,99 minutos. RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6), δ 8,44-8,52 (m), 8,06-8,20 (m), 7,96-8,01 (m), 7,69-7,83 (m), 7,20-7,28 (m), 7,11-7,19 (m), 3,38-3,83 (m), 3,19-3,26 (m), 3,03-3,12 (m), 2,98 (s), 2,91 (s), 2,75 (s), 2,65-2,70 (m), 2,01-2,36 (m), 1,65-1,87 (m), 1,39-1,57 (m), 1,13-1,37 (m), 1,04-1,08 (m), 0,74-1,01 (m).

Preparación de N-[5-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)pentanoil]-N,2-dimetilalanil-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1(S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida (mvn.º 115).



Etapa 1. Preparación de N-[5-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)pentanoil]-N,2-dimetilalanil-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1(S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida (**mvn.º 115**). A una solución en agitación de ácido 5-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)pentanoico (12 mg, 0,061 mM) en 0,4 ml de diclorometano y 0,1 ml de DMF, se añadió HATU (23,2 mg, 0,061 mM), seguido de base de Hunig (0,033 ml, 0,188 mM). La reacción se dejó en agitación durante 5 minutos antes de añadirse **n.º 115** (39 mg, 0,047 mM) como una solución en 0,4 ml de diclorometano y 0,1 ml de DMF. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3 horas y 15 minutos, antes de interrumpirse a través de la adición de agua que contenía una pequeña cantidad de TFA. Después, la reacción se redujo. El material en bruto se disolvió con DMSO y se purificó por cromatografía de fase inversa (Procedimiento J). Después, las fracciones apropiadas se concentraron (Genevac). Después, el material purificado adicionalmente por cromatografía de fase inversa (Procedimiento K) concentrándose las fracciones apropiadas (Genevac). Después, el material se transfirió a un vial pequeño usando diclorometano y metanol antes de reducirse (Genevac) para proporcionar **mvn.º 115** (1,4 mg, 3,3 %) como una mezcla de aceite/sólido. HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 897,5 $[M+H]^+$, tiempo de retención = 9,149 minutos (pureza > 97 %).

Preparación de N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N,2-dimetilalanil-N-[(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1(S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil]-N-metil-L-valinamida (mcn.º 115)



Etapa 1. Síntesis de cloruro de 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoilo (**n.º 248**). A una solución en agitación de ácido 6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoico (3,15 g, 14,9 mM) en 15 ml de diclorometano, se añadió

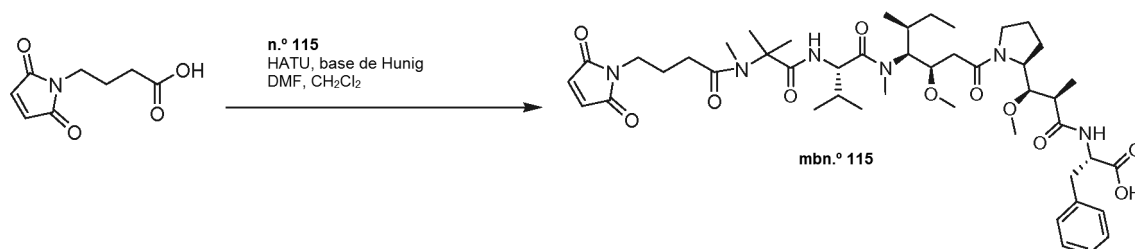
cloruro de oxalilo (1,61 ml, 17,9 mM), seguido de una gota de DMF. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante tres horas. La reacción se concentró al vacío. El residuo se disolvió en una solución uno a uno de heptano y diclorometano y después se concentró al vacío. Este procedimiento se repitió dos veces más, produciendo un **n.º 248** sólido (3,43 g, 100 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆): δ [7,02 (s, 2H), 3,43 (m, 2H), 2,53 (m, 1H), CH₂, 1,8 (m, 1H), 1,54 (m, 4H), 1,26 (m, 2H)].

Etapa 2. Síntesis de *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-*N*,2-dimetilalanina (**n.º 249**). A una solución en agitación de **n.º 248** (600 mg, 2,61 mM) en 10 ml de diclorometano, se añadió *N*,2-dimetilalanina (306 mg, 2,61 mM), seguido de trietilamina (1,09 ml, 7,84 mM). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante tres horas. Se añadió diclorometano a la reacción y la fase orgánica se lavó tres veces con agua y dos veces con salmuera. La fase orgánica se separó y después se secó sobre sulfato sódico antes de concentrarse al vacío. El residuo en bruto se purificó por cromatografía de sílice (0-30 % de metanol en diclorometano) sobre sílice que se había neutralizado previamente con trietilamina, produciendo un sólido de color blanco, **n.º 249** (127 mg, 16 %). CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 309,0 [M-H⁻], tiempo de retención = 0,96 minutos.

Etapa 3. Síntesis de *N*-{(2*R*,3*R*)-3-metoxi-3-[(2*S*)-1-[(3*R*,4*S*,5*S*)-3-metoxi-5-metil-4-[metil(L-valil)amino]heptanoil]pirrolidin-2-il]-2-metilpropanoil}-*L*-fenilalanina (**n.º 250**). A una solución en agitación de **n.º 113** (2,10 g, 2,46 mM) en 10 ml de THF, se añadió hidróxido de litio (228 mg, 5,16 mM), seguido de 3 ml de agua. La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se acidificó a través de la adición de HCl 1 M y después se concentró al vacío. El sólido de color blanco resultante se recogió en 20 ml de acetonitrilo y 5 ml de agua. La fase acuosa se retiró y la fase orgánica se lavó una vez con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. Después, se añadió acetato de etilo (20 ml) y el aceite en bruto se dejó en agitación durante 30 minutos, antes de filtrarse para producir un sólido de color blanco, **n.º 250** (1,42 g, 94 %). CL-EM (Protocolo Q): *m/z* 619,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,10 minutos. HPLC (Protocolo A a 45 °C) *m/z* 619,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 6,732 minutos.

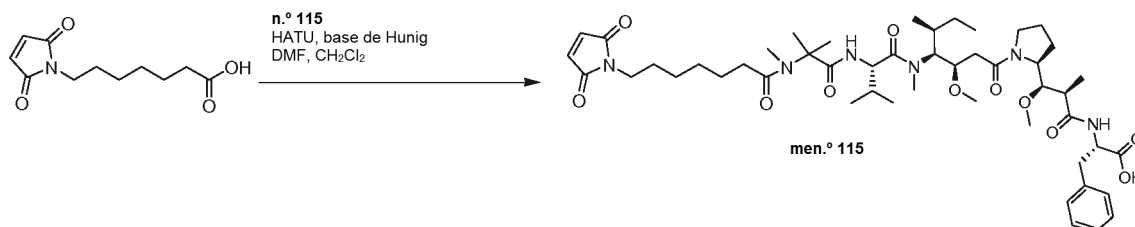
Etapa 4. Síntesis de *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-*L*-valinamida (**mcn.º 115**). A una solución en agitación de **n.º 249** (382 mg, 1,23 mM) en 5 ml de diclorometano, se añadió HATU (482 mg, 1,23 mM), seguido de trietilamina (0,52 ml, 1,23 mM). La reacción se dejó en agitación durante 1 hora a temperatura ambiente, seguido de la adición de **n.º 250** (762 mg, 1,23 mM). La reacción se dejó en agitación durante 3 horas. La reacción se concentró al vacío. La purificación de fase inversa (Procedimiento L), seguido de liofilización, produjo un sólido de color blanco **mcn.º 120** (124 mg, 11 %). HPLC (Protocolo A a 45 °C); *m/z* 911,5 [M+H⁺], tiempo de retención = 9,676 minutos.

Preparación de *N*-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)butanoil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-*L*-valinamida (mbn.º 115**).**



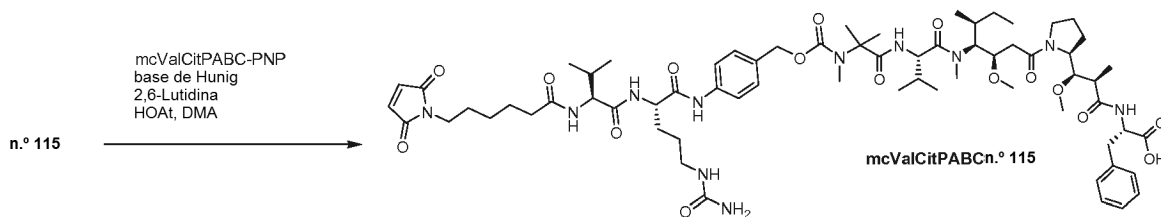
Etapa 1. Síntesis de *N*-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)butanoil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-*L*-valinamida (**mbn.º 115**). Una solución en agitación de ácido 4-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)butanoico (1,2 equivalentes), HATU (1,2 equivalentes) y base de Hunig (3 equivalentes) en DMF y diclorometano se deja en agitación durante 30 minutos. Después, se añadió el compuesto **n.º 115** (1 equivalente) en forma de una solución en diclorometano y DMF. La reacción se concentró por CL-EM. La reacción se concentró y la purificación se completó mediante cromatografía de fase inversa de media presión Isco (Gradiente: 5 %-100 % de agua en acetonitrilo).

Preparación de *N*-[7-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)heptanoil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-*L*-valinamida (men.º 115).



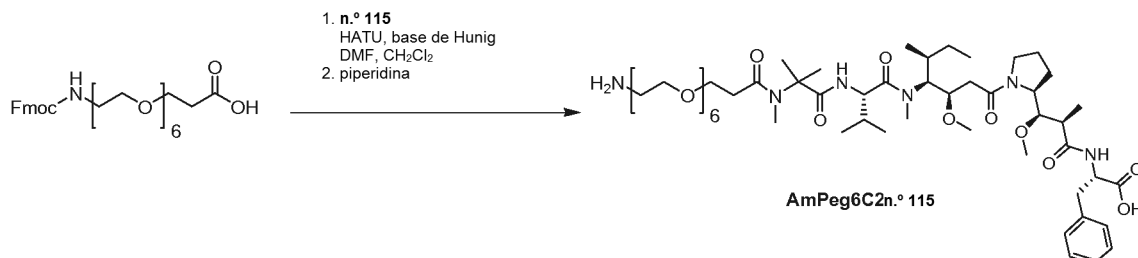
- 5 **Etapa 1.** Síntesis de *N*-[7-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)heptanoil]-*N*,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-*L*-valinamida (men.º 115). Una solución en agitación de ácido 7-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)heptanoico (1,2 equivalentes), HATU (1,2 equivalentes) y base de Hunig (3 equivalentes) en DMF y diclorometano se deja en agitación durante 30 minutos. Después, se añadió el compuesto n.º 115 (1 equivalente) en forma de una solución en diclorometano y DMF. La reacción se concentró por CL-EM. La reacción se concentró y la purificación se completó mediante cromatografía de fase inversa de media presión Isco (Gradiente: 5 %-100 % de agua en acetonitrilo).

15 **Preparación de *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*-5~carbamoil-*N*-(4-[(8*S*,11*S*,12*R*)-12-(2-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil] amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-8-isopropil-4,5,5,10-tetrametil-11-[(1*S*)-1-metilpropil]-3,6,9-trioxo-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil)-*L*-ornitinamida (mcValCitPABCn.º 115).**



- 20 **Etapa 1.** Síntesis de *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*-5~carbamoil-*N*-(4-[(8*S*,11*S*,12*R*)-12-(2-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-8-isopropil-4,5,5,10-tetrametil-11-[(1*S*)-1-metilpropil]-3,6,9-trioxo-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil)-*L*-ornitinamida (mcValCitPABCn.º 115). Se preparó una solución de mcValCitPABC (Engarce n.º D, 1 equivalente) y n.º 115 (1 equivalente) en DMF. Se añadió base de Hunig (4 equivalentes), 2,6-Lutidina (4 equivalentes) y HOAT (0,2 equivalentes). La reacción se concentró por CL-EM. La reacción se concentró y la purificación se completó mediante cromatografía de fase inversa de media presión Isco (Gradiente: 5 %-100 % de agua en acetonitrilo).

25 **Preparación de *N*-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-oi)-*N*,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-*L*-valinamida (AmPeg6C2n.º 115).**

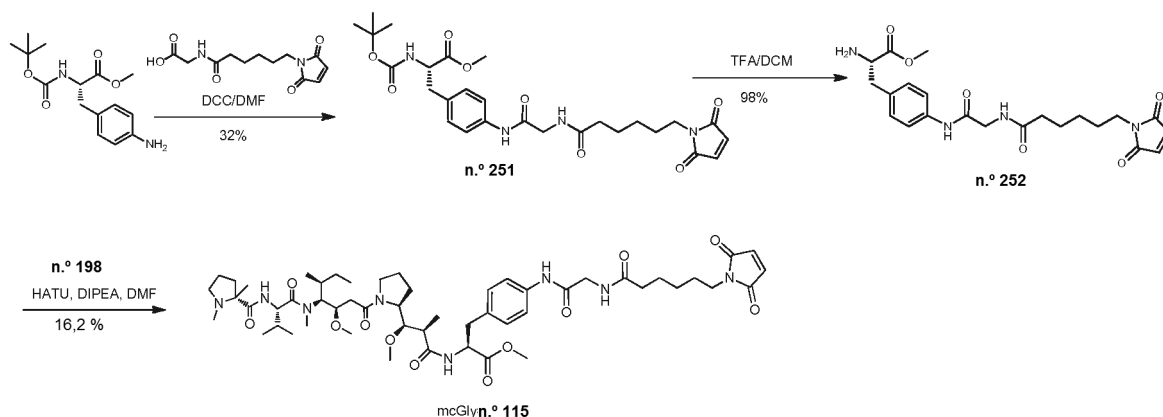


- 30 **Etapa 1.** Síntesis de *N*-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-oi)-*N*,2-dimetilalanil-*N*-{(1*S*,2*R*)-4-[(2*S*)-2-[(1*R*,2*R*)-3-[(1*S*)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1*S*)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-*N*-metil-*L*-valinamida (AmPeg6C2n.º 115). Una solución de ácido 1-(9H-fluoren-9-il)-3-oxo-2,7,10,13,16,19,22-heptaoxa-4-azapentacosan-25-oico (1 equivalente), HATU (1 equivalente) y base de Hunig (3 equivalentes) se dejó en agitación durante 30 minutos. Se añadió el compuesto n.º 115 en forma de una solución en DMF. La reacción se concentró por CL-EM. Cuando la reacción de acoplamiento estaba casi completa, se añadió piperidina (5 equivalentes). La desprotección de Fmoc se controló por CL-EM. La reacción se concentró y la

purificación se completó mediante cromatografía de fase inversa de media presión Isco (Gradiente: 5 %-100 % de agua en acetonitrilo).

Preparación de 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-((2S)-3-[4-((N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]glicil)amino)fenil]-1-metoxi-1-oxopropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida mcGlyn.º 201.

5



Etapa 1: Síntesis de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-4-((N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H pirrol-1-il)hexanoil]glicil)amino)-L-fenilalaninato de metilo (n.º 251): A una solución de 4-amino-*N*-(*tert*-butoxicarbonil)-L-fenilalaninato de metilo (4,1 g, 15,3 mmol, 1 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida seca (70 ml) se añadió *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (2,9 g, 15,3 mmol, 1 equiv.) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 30 minutos. Se añadió una solución de ácido 2-(6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanamido)acético (3 g, 10,2 mmol, 0,66 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida seca (20 ml) se añadió a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. La mezcla se filtró. El filtrado se vertió en agua enfriada con hielo (200 ml) y se extrajo con EtOAc (200 ml x 3). El extracto se lavó con salmuera (200 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró al vacío para proporcionar n.º 251 (1,8 g, rendimiento del 32,3 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. HPLC (Protocolo Q2) [M+Na⁺] 567,3, tiempo de retención = 1,02 min.

10

15

Etapa 2: Síntesis de 4-((N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]glicil)amino)-L-fenilalaninato de metilo (n.º 252): A una solución de n.º 251 (800 mg, 1,47 mmol, 1 equiv.) en diclorometano (16 ml) se añadió TFA (4,8 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se concentró al vacío. El residuo se disolvió en agua y se filtró. El filtrado se liofilizó para proporcionar n.º 252 (800 mg, 97,5 %) en forma de un sólido de color blanco. HPLC (Protocolo Q3) [M+H⁺] 445,4, tiempo de retención = 0,90 min.

20

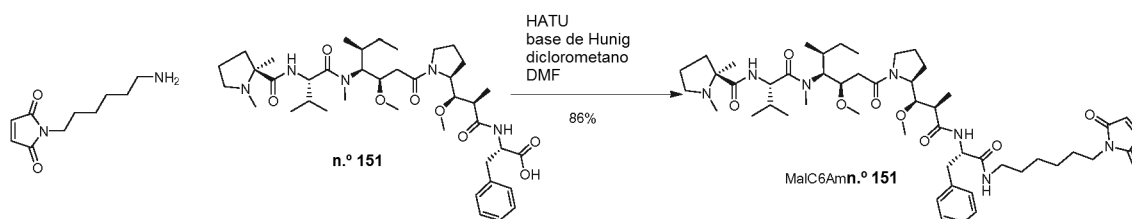
Etapa 3: Síntesis de 1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-((2S)-3-[4-((N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]glicil)amino)fenil]-1-metoxi-1-oxopropan-2-il)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (mcGlyn.º 201). A una solución de n.º 198 (94 mg, 0,13 mmol, 1 equiv.) y n.º 252 (60,3 mg, 0,18 mmol, 1,4 equiv.) en *N,N*-dimetilformamida (2 ml) se añadió HATU (64,2 mg, 0,13 mmol, 1 equiv.) seguido de *N,N*-diisopropiletilamina (66 mg, 0,52 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido cítrico ac. y se concentró para dar el producto en bruto, que se purificó por cromatografía de gel de sílice (eluyendo con MeOH/DCM de 1 % a 7 %), después se purificó de nuevo por TLC preparativa (Metanol:diclorometano = 1:10) para dar mcGlyn.º 201 (25 mg, 16,2 %) en forma de un sólido de color blanco: IEN-EM: m/z 1023,59 [M+H⁺], HPLC (Protocolo EB); tiempo de retención = 4,0 minutos (Pureza = 96 %). RMN ¹H (DMSO-d₆) 9,88 (d, 1H), 8,48 (d, 0,5H), 8,24 (d, 0,5H), 8,11 (m, 1H), 7,82 (m, 1H), 7,47 (d, 2H), 7,15 (m, 2H), 7,01 (s, 2H), 4,67 (m, 3H), 3,96 (m, 4H), 3,65 (m, 4H), 3,40 (m, 4H), 3,27 (m, 7H), 3,16 (m, 5H), 2,24 (m, 8H), 1,50 (m, 11H), 1,19 (m, 21H).

25

30

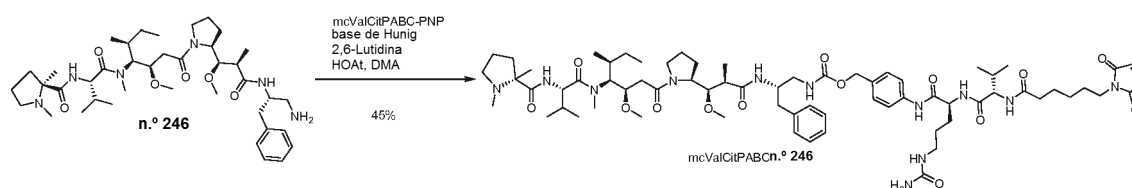
Preparación de 1,2-dimetil-L-propil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-((2S)-1-[[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexil]amino)-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-*N*-metil-L-valinamida (MalC6Amn.º 151).

35



Etapa 1. Síntesis de 1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[2S)-1-[[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexil]amino]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida (**MalC6Amn.º 151**). Siguiendo el procedimiento general D, usando **n.º 151** (20 mg, 0,023 mmol, 1,0 equiv.), 1-(6-aminohexil)-1H-pirrol-2,5-diona (7,0 mg, 0,030 mmol, 1,3 equiv.), HATU (11,4 mg, 0,030 mmol, 1,3 equiv.) y base de Hunig (0,016 ml, 0,092 mmol, 1,3 equiv.) en 2 ml de diclorometano y 0,2 ml de DMF, seguido de purificación usando cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 5 % a 80 % de acetonitrilo en agua con 0,02 % de TFA en cada fase) se produjo **MalC6Amn.º 151** (18,4 mg, 86 %) en forma de una mezcla transparente de aceite/sólido. CL-EM (Protocolo Q): m/z 922,3 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,43 minutos; HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 922,4 [M+H⁺], tiempo de retención = 7,203 minutos.

10 Preparación de N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-(4-[(6S,9R,10R)-6-bencil-10-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[(1,2-dimetil-L-prolil-L-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-9-metil-3,8-dioxo-2,11-dioxo-4,7-diazadodec-1-il]fenil)-N-5~-carbamoil-L-ornitinamida (mcValCitPABCn.º 246)



15 Etapa 1. Síntesis de N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-(4-[(6S,9R,10R)-6-bencil-10-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[(1,2-dimetil-L-prolil-L-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-9-metil-3,8-dioxo-2,11-dioxo-4,7-diazadodec-1-il]fenil)-N-5~-carbamoil-L-ornitinamida (**mcValCitPABCn.º 246**). Siguiendo el procedimiento general E, usando **n.º 246** (29,2 mg, 0,035 mmol, 1,0 equiv.), mcValCitPABC-PNP (28,8 mg, 0,039 mmol, 1,1 equiv.), 2,6-Luditina (0,016 ml, 0,14 mmol, 4,0 equiv.), base de Hunig (0,025 ml, 0,14 mmol, 4,0 equiv.) y HOAT (4,8 mg, 0,035 mmol, 1,0 equiv.) en 2,0 ml de DMA, seguido de purificación usando cromatografía C18 de fase inversa y presión media (Gradiente: de 5 % a 50 % de acetonitrilo en agua con 0,02 % de TFA en cada fase) se produjo **mcValCitPABCn.º 246** (21 mg, 45 %) en forma de una mezcla transparente de aceite/sólido. CL-EM (Protocolo Q): m/z 1327,9 [M+H⁺], tiempo de retención = 1,36 minutos.

Estudios de HERCEPTIN® *in vitro* e *in vivo*

25 Nótese que para los siguientes estudios HERCEPTIN® en ausencia de agentes citotóxicos conjugados no muestra potencia significativa *in vitro* o efectividad *in vivo* a concentraciones equivalentes de anticuerpo.

Procedimiento de ensayo celular *in vitro*

30 Se sembraron células que expresan la diana (BT474 (cáncer de mama, N87 (cáncer de gástrico), HCC1954 (cáncer de mama), MDA-MB-361-DYT2 (cáncer de mama)) o células que no la expresan (MDA-MB-468) en placas de cultivo celular de 96 pocillos durante 24 horas antes del tratamiento. Las células se trataron con conjugados fármaco anticuerpo diluidos en serie 3 veces o compuestos libres (es decir, sin anticuerpo conjugado al fármaco) por duplicado a 10 concentraciones. La viabilidad celular se determinó por el Ensayo CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation MTS (Promega, Madison WI) 96 horas después del tratamiento. La viabilidad celular relativa se determinó como porcentaje de control sin tratar. Los valores CI_{50} se calcularon usando un modelo **n.º 203** logístico de cuatro parámetros con XLfit v4.2 (IDBS, Guildford, Surry, RU). Los resultados se muestran en las Tablas 20, 21A y 21B.

Modelo de xenoinjerto de tumor MDAMB-361 DYT2 *in vivo*

40 Se realizaron estudios de efectividad *in vivo* de los conjugados fármaco anticuerpo con la línea celular Her2+ MDAMB-361 DYT2. Para los estudios de efectividad, se implantaron subcutáneamente 10 millones de células tumorales en matrigel al 50 % en ratones desnudos irradiados de 6-8 semanas de edad. Cuando los tamaños del tumor alcanzaron entre 250-350 mm³ se administraron fármacos o vehículo a través de inyección de bolo en la vena de la cola. Los ratones se inyectaron con 1 mg/kg de conjugados fármaco anticuerpo tratados cuatro veces cada cuatro días (Q4dx4). El volumen del tumor se mide dos veces a la semana durante los primeros 50 días y una vez a la semana en lo sucesivo por un dispositivo calibrador y se calculó con la siguiente fórmula: Volumen del tumor = (longitud x anchura²) / 2. Los resultados se compararon a lo largo de los estudios normalizando la regresión tumoral del ratón tratado con fármaco dividiendo el volumen tumoral por el volumen tumoral tratado con vehículo (T/C).

50 Se ensayaron seis compuestos en los tres diferentes estudios de xenoinjerto MDA-MB-361-DYT2 para determinar su actividad antitumoral. Los resultados de un estudio representativo con cuatro de los compuestos demuestran la regresión significativa del tumor de los ratones tratados con vehículos durante el periodo de observación de 50 días (Figura 1). Para comparar los resultados de los compuestos en los tres estudios, la actividad anti-tumoral se normalizó dividiendo el volumen del tumor tratado con fármaco por el volumen tumoral tratado con vehículo (T/C). Un gráfico de los seis valores T/C (Figura 2) demuestra que cada uno de los seis compuestos provoca la regresión tumoral completa (o casi completa) durante el periodo de observación que fue hasta 107 días para uno de los

estudios.

Los resultados de la prueba de H(C)-n.º **D54**, H(C)-vcMMAE, H(C)-mcMMAF y H(K)-MCC-DM1 en los estudios de xenoinjerto de MDA-MB-361-DYT2 se muestran en la Figura 4. El gráfico del volumen tumoral en el grupo de tratamiento frente al grupo control (T/C) permite la comparación entre conjugados (véase la Figura 5C). Estos resultados demuestran que H(C)-n.º **D54** muestra eficiencia equivalente a los conjugados de HERCEPTIN® con H(C)-vcMMAE, H(C)-mcMMAF y es superior a H(K)-MCC-DM1 en este modelo.

Modelo de xenoinjerto de tumor N87 *in vivo* (HERCEPTIN®)

Se realizaron estudios de efectividad *in vivo* de los conjugados fármaco anticuerpo con modelos de xenoinjerto que expresan la diana usando las líneas celulares N87. Para los estudios de efectividad, se implantan subcutáneamente 7,5 millones de células tumorales en matrigel al 50 % en ratones desnudos de 6-8 semanas de edad hasta que los tamaños de los tumores alcanzan entre 250 y 350 mm³. La dosificación se realiza a través de inyección de bolo de la vena de la cola. Dependiendo de la respuesta del tumor al tratamiento, los animales se inyectaron con 1-10 mg/kg de conjugados fármaco anticuerpo tratados cuatro veces cada cuatro días. Todos los animales experimentales se monitorizan para los cambios en el peso corporal semanalmente. El volumen del tumor se mide dos veces a la semana durante los primeros 50 días y una vez a la semana en lo sucesivo por un dispositivo calibrador y se calculó con la siguiente fórmula: Volumen del tumor = (longitud x anchura²) / 2. Los animales se sacrifican humanamente antes de que sus volúmenes tumorales alcancen 2500 mm³. El tamaño del tumor se observa disminuir después de la primera semana de tratamiento. Los animales pueden monitorizarse continuamente para el re-crecimiento del tumor después de que el tratamiento sea discontinuo.

Los resultados de la prueba de H(C)-n.º **D54**, H(C)-vcMMAE, H(C)-mcMMAF y H(K)-MCC-DM1 en los estudios en el modelo de detección *in vivo* de xenoinjerto de ratón N87 se muestran en las Figuras 3 y 5. Estos resultados demuestran que H(C)-n.º **D54** es superior/similar al conjugado H(C)-vcMMAE y es más potente que los conjugados H(C)-mcMMAF y H(K)-MCC-DM1 en este modelo.

Farmacocinética y toxicocinética

La farmacocinética de ratón y la toxicocinética de rata se determinaron a partir de estudios de farmacocinética de ratón de dosis única y de toxicología de rata (véanse las **Tablas 22 y 23**). La farmacocinética de ratón y la toxicocinética de rata se determinaron a partir de estudios de farmacocinética de ratón de dosis única y de toxicología de rata. La farmacocinética de ratón se determinó a partir de muestras recogidas de ratones desnudos que se administraron una dosis única de 3 mg/kg. Las muestras se recogieron durante hasta 336 h. La toxicocinética de ratas se determinó en ratas (Sprague-Dawley (Cri:CD (SD))) que se administraron una única administración de H(C)-vc-MMAE o H(C)-n.º **D54** a dosis de 3, 10 y 30 mg/kg o se administraron H(C)-mc-MMAD o H(C)-mc-MMAF a 10, 30 y 100 mg/kg. Las muestras se recogieron durante hasta 336 horas. Las concentraciones circulantes de anticuerpo total y ADC se midieron usando ensayos ELISA. El área bajo la curva (AUC) se calculó para el anticuerpo total y ADC y para cada ADC. También se calcularon las relaciones AUC ADC frente a anticuerpo.

La exposición del anticuerpo total H(C)-n.º **D54** y el ADC fue mayor que la observada para H(C)-vc-MMAE en ratones a 3 mg/kg y a todas las dosis evaluadas en ratas. La relación ADC a AUC Ac para H(C)-n.º **D54** también fue mayor que la observada para H(C)-vc-MMAE. Estos resultados sugieren que H(C)-n.º **D54** tiene mayor exposición y que el ADC y/o la carga útil de engarce son potencialmente más estables que H(C)-vc-MMAE.

Toxicidad

La toxicidad independiente de diana de n.º **D54** y el comparador engarce-cargas útiles (mcValCitPABC-MMAD y mcVal-CitPABC-MMAE) conjugado a un anticuerpo monoclonal sin reactividad cruzada (IgG 1) se evaluó en un estudio de toxicidad de rata de dosis única en un periodo de observación de dos semanas. Las dosis de los conjugados fármaco anticuerpo (ADC) fueron 0, 3,10 y 30 mg/kg con una n es 5 machos/grupo y la carga de engarce-carga útil fue similar a lo largo de los conjugados (3,8, 3,2, y 4 respectivamente). Estos estudios incluían observaciones clínicas al menos diarias, pesos corporales semanales, patología clínica (final de la vida) y necropsia (Día 15-17) con examinación al microscopio de 9 o más tejidos y cualquier lesión bruta.

La mortalidad con los cambios de peso corporal relacionados y los signos de morbilidad se observaron en la dosis de 30 mg/kg para todos los conjugados y a la dosis de 10 mg/kg para el conjugado MMAD. No hubo observaciones clínicas o cambios en el peso corporal en los grupos supervivientes.

Los órganos diana de los conjugados identificados por examinación al microscopio en los grupos supervivientes de dosis fueron como sigue. El conjugado a 10 mg/kg tenía deshechos en la luz del epidídimo (5/5, de mínimo a suave), inflamación en la base del corazón (1/5 ratas, mínimo) y mitosis aumentada en la córnea (1/5 ratones, mínimo). No hubo descubrimientos histológicos para el conjugado a 3 mg/kg. Para el conjugado MMAD en el grupo de dosis superviviente a 3 mg/kg, hubo cambios en y relacionados con la médula ósea y en los testículos y el epidídimo. Para el conjugado MMAE a 10 mg/kg, hubo cambios en la médula ósea, el riñón, el hígado y el epidídimo. En la dosis de 3 mg/kg para este conjugado, hubo cambios en el riñón y mitosis aumentada en el hígado. Por lo tanto, en estudios de diseño similar en los grupos supervivientes, el conjugado no tuvo descubrimientos de médula ósea vistos con los

conjugados comparadores y tampoco tuvieron descubrimientos vistos del hígado o el riñón con uno de los comparadores.

5 En resumen, la dosis máxima tolerada (MTD) del conjugado y el conjugado MMAE fue 10 mg/kg y la MTD del conjugado MMAD fue 3 mg/kg. El nivel de efecto adverso no observado (NOAEL) del conjugado fue 3 mg/kg mientras que el NOAEL de los conjugados comparadores engarce-carga útil fue menos de 3 mg/kg. Este estudio demuestra cómo el perfil toxicológico de n.º D54 se compara con ciertos compuestos descritos en la técnica.

Estudios in vitro e in vivo ADC Anti-IL-13Rα2

Anticuerpos y ADC Anti-IL-13Rα2

10 El anticuerpo hu08 humanizado se une específicamente al receptor IL-13Rα2. Las secuencias de aminoácidos y nucleótidos para hu08 se muestran en la **Tabla 3**. Las CDR de Kabat están subrayadas.

Tabla 3. Secuencias de aminoácidos y nucleótidos del anticuerpo hu08 humanizado.

SEQ ID NO	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
9	secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de hu08 (CDR subrayadas).	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSRNGMSWVR QAPGKGLEWVATVSSGGSYIYYADSVKGRFTISRDN AK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR QGTALATRFEDVWG QGTLVTVSS
10	secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera de hu08 (CDR subrayadas).	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTA VAWYQQ KPGKAPKLLIY SAS YRSTGVPSRFSGSGSGTDFLT TISSLQ PEDFATYYC QH HYSAPWTFGGG TKVEIK
11	secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de hu08 (CDR subrayadas).	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSRNGMSWVR QAPGKGLEWVATVSSGGSYIYYADSVKGRFTISRDN AK NSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR QGTALATRFEDVWG QGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVK DYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV V TVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDK KVEPKSCDKTHT CPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV VVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN STYRV VSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEK TISKAK GQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSD IAV EWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRW QQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSC SPGK
12	secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de hu08 (CDR subrayadas).	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASQDVGTA VAWYQQ KPGKAPKLLIY SAS YRSTGVPSRFSGSGSGTDFLT TISSLQ PEDFATYYC QH HYSAPWTFGGG TKVEIK TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQ WKVDNALQSGNSQESVTEQDSK DSTYLS STLTLSK AD YEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSF NRGEC

(continuación)

SEQ ID NO	DESCRIPCIÓN	SECUENCIA
13	secuencia de nucleótidos de la cadena pesada de hu08	<p>GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGCGGCGGACTGGTGC AGCCTGGCGGCTCTCTGAGACTGTCTTGTGCCGCCTCC GGCTTACCTTCAGTAGGAATGGCATGTCTTGGGTGA GGCAGGCCCTGGCAAGGGCCTGGAGTGGGTGGCCA CCGTTAGTAGTGGTGGTAGTTACATCTACTATGCAGA CAGTGTGAAGGGGCGGTTACCATCTCCAGGGACAAC GCCAAGAACTCCCTGTACCTCCAGATGAACTCCCTGA GGGCCGAGGATACCGCCGTGTACTACTGTGCCAGACA AGGGACTACGGCACTAGCTACGAGGTTCTTCGATGTC TGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGACCGTGTCTCTGCGT CGACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTC CTCCAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGC TGCTGGTCAAGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGG TGTCGTGGAACCTCAGGCGCCCTGACCAGCGGCGTGCA CACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGACTCTACT CCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTT GGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAG CCAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAAGTTGAGCCC AAATCTTGTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCC CAGCACCTGAACTCCTGGGGGGACCGTCAGTCTTCTC CTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGATCTCC CGGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACGTGA GCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGT GGACGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCC GCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTGTGGT CAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAAT GGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAAGCC CTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGCCA AAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGC CCCCATCCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTCA GCCTGACCTGCCTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGA CATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGGGCAGCCGGA GAACAATAACAAGACCACGCCTCCCGTGTGGACTCC GACGGTCTTCTTCTCTATAGCAAGCTCACCCGCTG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCAT GCTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACAC GCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCCCGGGTAATA</p>
14	secuencia de nucleótidos de la cadena ligera de hu08	<p>GACATCCAGATGACCCAGTCCCCCTCTTCTCTGTCTGC CTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTAAGGCC AGTCAGGATGTAGGTACTGCTGTAGCCTGGTATCAGC AGAAGCCTGGCAAGGCTCCCAAGCTGCTGATCTACTC GGCATCCTACCGGTCCAAGTGGCGTGCCTTCCAGATTCT CCGGCTCTGGCTCTGGCACCGATTTACCCTGACCATC TCTCCCTCCAGCCTGAGGATTTCCGCCACTACTACTG CCAGCACCATTATAGTGCTCCGTGGACGTTTGGCGGC GGAACAAAGGTGGAGATCAAGACTGTGGCTGCACCA TCTGTCTTCATCTTCCCGCCATCTGATGAGCAGTTGAA ATCTGGAACGCCTCTGTTGTGTGCCTGCTGAATAACT TCTATCCCAGAGAGGCCAAAGTACAGTGGAAAGGTGG ATAACGCCCTCCAATCGGGTAACTCCCAGGAGAGTGT CACAGAGCAGGACAGCAAGGACAGCACCTACAGCCT CAGCAGCACCCCTGACGCTGAGCAAAGCAGACTACGA GAAACACAAAGTCTACGCTGCGAAGTACCCCATCAG GGCCTGAGCTCGCCCGTCAAAAAGAGCTTCAACAGGG GAGAGTGT</p>

El anticuerpo hu08 anti-IL-13R α 2 humanizado se conjugó a diversas combinaciones engarce-carga útil de la presente invención, como se proporciona en la **Tabla 4**. Los conjugados fármaco anticuerpo se prepararon de acuerdo con los procedimientos de la presente invención.

Tabla 4 ADC anti-IL-13R α 2.

Engarce ADC-Carga útil n.º	Nomenclatura ADC correspondiente
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	hu08-vc-0101
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 115	hu08-mc-3377
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-0 n.º 118	hu08-mc-0131
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 117	hu08-Malpeg-6121
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-0 n.º 118	hu08-Malpeg-0131
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 117	hu08-mc-6121
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 226	hu08-vc-3906
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	hu08-vc-6780
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 69	hu08-mc-8261
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 226	hu08-mc-3906
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	hu08-MalPeg-8261
hulgG8.84-mcValCitPABC-n.º 54	hulgG8.84-vc0101
hulgG8.84-mc-n.º 115	hulgG8.84-mc3377

5

Ensayo de citotoxicidad *in Vitro* con ADC anti-IL-13R α 2

Se cultivaron líneas celulares que expresan el antígeno IL-13R α 2 y una línea celular de control negativo, con concentraciones en aumento de ADC anti-IL-13R α 2 que comprenden el anticuerpo hu08 conjugado a diversas cargas conectoras de la presente invención. Después de cuatro días, se evaluó la viabilidad de cada cultivo. los valores Cl_{50} se calcularon por regresión no lineal logística y se presentan como ng de Ac/ml.

10

Los datos demuestran que el anticuerpo hu08v1.0/1.0 anti-IL-13R α 2 conjugado a seis cargas útiles de auristatina diferentes es eficaz contra ambas de las líneas celulares positivas IL-13R α 2 ensayadas (PC3MM2), que tiene un Cl_{50} que varía de 1,1 a 4,9 ng Ac/ml o 7,3-32,7 pM (**Tabla 5**). Todos los ADC no eran activos contra la línea celular negativa IL-13R α 2, H460, y los ADC control de no unión a IL-13R α 2, hulgG8.84-vc0101 y hulgG8.84-mc3377, no fueron activos contra cualquiera de las líneas celulares ensayadas.

15

Tabla 5. Valores Cl_{50} (ng de Ac/ml) de ADC anti-IL-13R α 2 humanizado.

ADC	DAR	Cl_{50} (ng Ab/ml)		
		PC3MM2	A375	H460
hu08-vc0101	3,2	2,5	3,8	>400000
hu08-mc3377	4,3	1,2	2,2	>400000
hu08-mc-0131	3,2	1,3	2,1	>400000
hu08-Malpeg-6121	3,3	3,5	3,4	>400000
hu08-Malpeg-0131	2,9	2,9	4,9	>400000
hu08-mc-6121	3,3	1,1	2,4	>400000
hu08-vc-3906	3	1,5	2,9	>400000
hu08 vc-6780	4	1,2	2,2	>400000
hulgG8.84-vc0101	3,7	>400000	>400000	>400000
hulgG8.84-mc3377	4,3	>400000	>400000	>400000

Modelos de xenoinjerto subcutáneos *in vivo* con ADC anti-IL13R α 2

El anticuerpo hu08 humanizado se une específicamente al receptor IL-13R α 2. Se probaron ADC hu08 con once combinaciones diferentes de engarce-carga útil en un modelo de xenoinjerto *in vivo*. Unos ratones hembra atímicos (desnudos) fueron inyectados subcutáneamente con PC3MM2. Los ratones con tumores faseados, aproximadamente 0,1 a 0,3 g (n = 8 a 10 ratones/grupo de tratamiento), fueron administrados intravenosamente q4d x 4 con solución salina normal (vehículo), ADC hu08v1.0/1.0 con engarces-cargas útiles vc-0101, vc-6780, vc-3906, mc-8261, mc-0131, mc-6121, mc-3377, MalPeg-8261, MalPeg-0131, MalPeg-6121 o MalPeg-3906 y un Ac de no unión (hulgG8.84) conjugado con vc-0101 o mc-3377, a una dosis de 2 o 3 mg Ac/kg. Los ADC fueron dosificados a base de un contenido de Ac. Los tumores se midieron al menos una vez a la semana y su tamaño se calcula como mm³ = 0,5 x (anchura del tumor²) x (longitud del tumor).

Los resultados de efectividad *in vivo* listados en la **Tabla 6** muestran un intervalo de actividad anti-tumoral con los diversos ADC probados. El orden relativo de potencia es hu08-vc-0101 > hu08-vc-6780 > hu08-mc-0131 > hu08-mc-6121 > hu08-mc-3906 > hu08-MalPeg-0131 > hu08-MalPeg-6121 > hu08-MalPeg-3906 > hu08-mc-8261. En el nivel de dosis de 3 mg/kg, tanto hu08-vc-0101 y hu08-mc-3377 demostraron actividad antitumoral, mientras que el Ac de no unión (hulgG8.84) conjugado con vc-0101 o mc-3377 no tuvo actividad y fueron similares al control vehículo.

Tabla 6. Efectividad de ADC anti-IL-13R α 2 en xenoinjertos PC3MM2.

ADC	Dosis (mg/kg) Q4dx4	Xenoinjerto PC3MM2, volumen tumoral (mm ³ +/- SEM)							
		Día -1	Día 3	Día 8	Día 16	Día 20	Día 30	Día 42	Día 52
Vehículo	0	638 ± 27	1149 ± 82	1707 ± 133	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-MalPeg-3906	2	642 ± 36	1036 ± 60	1176 ± 51	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-mc-8261	2	642 ± 51	1088 ± 121	1429 ± 158	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-mc-0131	2	637 ± 44	1004 ± 73	778 ± 83	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-MalPeg-6121	2	638 ± 36	947 ± 85	1000 ± 126	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-MalPeg-0131	2	649 ± 39	1085 ± 54	1040 ± 88	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-vc-0101	2	646 ± 36	899 ± 54	557 ± 49	243 ± 28	201 ± 20	113 ± 17	207 ± 49	532 ± 151
hu08-vc-6780	2	641 ± 28	850 ± 100	652 ± 54	279 ± 55	217 ± 45	230 ± 133	GT	GT
hu08-mc-6121	2	636 ± 37	909 ± 63	821 ± 93	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-mc-3906	2	637 ± 26	875 ± 48	806 ± 70	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-MalPeg-8261	2	645 ± 34	991 ± 71	1220 ± 115	GT	GT	GT	GT	GT
hu08-vc0101	3	339 ± 18	433 ± 45	38 ± 14	6 ± 6	110 ± 110	230 ± 230	GT	GT
hu08-mc3377	3	337 ± 21	385 ± 36	41 ± 12	0 ± 0	78 ± 36	346 ± 147	616 ± 243	902 ± 364
hulgG8.84-vc0101	3	365 ± 22	581 ± 47	1017 ± 168	GT	GT	GT	GT	GT
hulgG8.84-mc3377	10	328 ± 27	459 ± 63	295 ± 121	544 ± 258	GT	GT	GT	GT

GT = grupo terminado debido al gran tamaño del tumor

Estudios *in vitro* e *in vivo* ADC Anti-Notch

Anticuerpos y ADC anti-Notch

Los anticuerpos humanizados, hu28 y hu75 y los anticuerpos quiméricos rata-humano, ch28 y ch75, se unen específicamente al receptor Notch. Las secuencias de aminoácidos y de nucleótidos para hu28 y hu75 se proporcionan a la Tabla 7. Las CDR de Kabat están subrayadas.

Tabla 7. Secuencias de aminoácidos y de nucleótidos de anticuerpos anti-Notch humanizados.

SEQ ID NO.	DESCRIPCIÓN	SECUENCIAS
15	secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de hu28 (CDR subrayadas).	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYGMTWVRQAPGKGL EWVAYISSGSNYIYYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARR <u>GPFLDA</u> WGQGLTVVSS
16	secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de hu28 (CDR subrayadas). Región constante de IgG 1 humana	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRDYGMTWVRQAPGKGL EWVAYISSGSNYIYYAEAVKGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARR <u>GPFLDA</u> WGQGLTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSG GTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPA PELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWY VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCK VSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSR WQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
17	secuencia de nucleótidos de la cadena pesada de hu28	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGG GGGTCCCCTGAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGATTCACCTTCAG GGACTATGGAATGACCTGGGTCCGCCAGGCTCCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTGGCCTATATTAGTAGTGGTAGCAATTACATCTATT ATGCAGAAGCGGTGAAGGGCCGATTACCATCTCCAGAGACAAC GCCAAGAACTCACTGTATCTGCAAAATGAACAGCCTGAGAGCCGA GGACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGACGAGGCCCGCTTTGTTTT GGATGCCTGGGGCCAGGGAACCCTGGTCACCGTCTCCTCAGCGTC GACCAAGGGCCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTCCAAGAG CACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGCTGCCTGGTCAAGGACT ACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACCTCAGGCGCCCTGA CCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCTCAGGAC TCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGCAGCTTGG GCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATCACAAGCCCAGCAAC ACCAAGGTGACAAGAAAGTTGAGCCCAAATCTTGTGACAAAAC TCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTGAACCTCTGGGGGAGC GTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAACCCAAGGACACCCTCATGAT CTCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCC ACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTG GAGGTGCATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACA ACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCCCTACCGTCTGCACCAGG ACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCCAACAAA GCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAGCCAAAGG GCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCATCCCGGG AGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTACCGTGCCTGGTCAAA GGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAGCCGGAGAACAACACTACAAGACCACGCTCCCGTGTGGACT CCGACGGCTCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGGACAAGA GCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTGATGCATG AGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTCCCTGTCCC CGGT
18	secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera de hu28 (CDR subrayadas).	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQINRYLHWYQKPKGKAPKLL IYN <u>ANGLQ</u> TGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>LQH</u> NTWP <u>DT</u> FGGGTKVEIK
19	secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de hu28 (CDR subrayadas). Región constante kappa humana	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQINRYLHWYQKPKGKAPKLL IYN <u>ANGLQ</u> TGVPSRFSGSGSDFTLTISSLQPEDFATYYC <u>LQH</u> NTWP <u>DT</u> FGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNFFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLTSKADYEKHK KYYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(continuación)

SEQ ID NO.	DESCRIPCIÓN	SECUENCIAS
20	secuencia de nucleótidos de la cadena ligera de hu28	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTA GGAGACAGAGTCAACATCACTTGCAAAGCAAGTCAGAGTATTAA CAGGTACTIONACTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA AGCTCCTGATCTATAATGCAAACGGTTTGCAAACGGGGTCCCAT CAAGGTTTCAGTGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTACTACTGTTTGC AGCATAATACGTGGCCGGACACGTTTGGCGGAGGGACCAAGGTG GAGATCAAACCGGACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTCCCC CCTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCGCCTCTGTGGTGTGT CTGCTGAACAATTCTACCCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAA GGTGGACAACGCTCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAGTCTGTGA CCGAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCC TGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCC TGTGAGGTGACCCACAGGCCTGTCTCTCTGTGACCAAGTCC TTCAACCGGGGCGAGTGC
21	secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada de hu75 (CDR subrayadas).	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFTDYWMTWVRQAPGKGL EWVAEISPNSGGTGFNEKFKGRFTISVDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGEIRYNWFAYWGQGLVTVSS
22	secuencia de aminoácidos de la cadena pesada de hu75 (CDR subrayadas). Región constante de IgG 1 humana	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYAFTDYWMTWVRQAPGKGL EWVAEISPNSGGTGFNEKFKGRFTISVDNAKNSLYLQMNSLRAEDT AVYYCARGEIRYNWFAYWGQGLVTVSSASTKGPSVFLAPSSKST SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYS LSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFN WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTC LVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
23	secuencia de nucleótidos de la cadena pesada de hu75	GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGGAGGCTTGGTCCAGCCTGG GGGTCCCAGACTCTCCTGTGCAGCCTCTGGTTATGCATTAC TGACTACTGGATGACCTGGGTCCGCCAGGTCAGGGAAGGGGC TGGAGTGGGTGGCCGAAATTTCTCCTAACAGTGGTGGTACTAACT TCAATGAAAAGTTCAAGGGCCGATTCACCATCTCCGTTGACAACG CCAAGAATCACTGTATCTGCAAATGAACAGCCTGAGAGCCGAG GACACGGCTGTGTATTACTGTGCGAGAGGGGAAATCCGTTACAA TTGGTTTGCTTACTGGGGCCAGGGAACCTGGTACCGTCTCCTC AGCGTCGACCAAGGGCCATCGGTCTTCCCCCTGGCACCCCTCCTC CAAGAGCACCTCTGGGGGCACAGCGGCCCTGGGTGCCTGGTCA AGGACTACTTCCCCGAACCGGTGACGGTGTCTGGAACACTCAGGC GCCCTGACCAGCGCGTGCACACCTTCCCGGCTGTCTACAGTCC TCAGGACTCTACTCCCTCAGCAGCGTGGTGACCGTGCCCTCCAGC AGCTTGGGCACCCAGACCTACATCTGCAACGTGAATACAAGCC CAGCAACACCAAGGTGGACAAGAAAGTTGAGCCAAATCTTGTG ACAAAACACACATGCCCACCGTGCCAGCACCTGAACTCCTGG GGGACCGTCAGTCTTCTCTTCCCCCAAAAACCAAGGACACCC TCATGATCTCCCGACCCCTGAGGTCACATGCGTGGTGGTGGACG TGAGCCACGAAGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGAC GGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAGGAGC AGTACAACAGCACGTACCGTGTGGTCAGCGTCTCACCGTCTCCTC ACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAGTACAAGTGCAAGGTCTCC AACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAACCATCTCCAAAGC CAAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCCTGCCCCCAT CCCGGGAGGAGATGACCAAGAACCAGGTGACCGTGCCTGCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAG CAATGGGCAGCCGAGAACAACTACAAGACCAAGCCCTCCCGTGC TGGACTCCGACGGCTCCTTCTCTCTATAGCAAGCTCACCGTGG ACAAGAGCAGGTGGCAGCAGGGGAACGTCTTCTCATGCTCCGTG ATGCATGAGGCTCTGCACAACCACTACACGCAGAAGAGCCTCTC CCTGTCCCCGGGT

(continuación)

SEQ ID NO.	DESCRIPCIÓN	SECUENCIAS
24	secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena ligera de hu75 (CDR subrayadas).	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGNNIAWYQQKPGKAPKL LIYYASNRYTGVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRLYNS PFTFGGGTKVEIK
25	secuencia de aminoácidos de la cadena ligera de hu75 (CDR subrayadas). Región constante kappa humana	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASQNVGNNIAWYQQKPGKAPKL LIYYASNRYTGVPSRFSGSGYGTDFTLTISLQPEDFATYYCQRLYNS PFTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPR EAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEEK HKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
26	secuencia de nucleótidos de la cadena ligera de hu75	GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCCTCCCTGTCTGCATCTGTA GGAGACAGAGTCAACCATCACTTGCAAGGCCAGTCAGAATGTGGG TAATAATATAGCCTGGTATCAGCAGAAACCAGGGAAAGCCCCTA AGCTCCTGATCTATTATGCATCTAACCGGTACACTGGGGTCCCAT CAAGGTTCAGTGGCAGTGGATATGGGACAGATTTCACTCTCACCA TCAGCAGTCTGCAACCTGAAGATTTTGCAACTTACTACTGTCAGC GTCTTTACAATTCTCCATTCACGTTCCGGCGGAGGGACCAAGGTGG AGATCAAACGGACCGTGGCCGCTCCTTCCGTGTTTCATCTTCCCC CTTCCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACCCTCTGTGGTGTGTC TGCTGAACAACCTTCTACCCCGGGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAG GTGGACAACGCTCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAGTCTGTGACC GAGCAGGACTCCAAGGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCTG ACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTG TGAGGTGACCCACCAGGGCCTGTCTCTCCTGTGACCAAGTCCTT CAACCGGGGCGAGTGC

Los anticuerpos anti-Notch humanizados, hu28 y hu75 y los anticuerpos anti-Notch quiméricos rata-humano, ch28 y ch75, se conjugaron a diversas combinaciones de engarce-carga útil de la presente invención, como se proporciona en la **Tabla 8**. Los conjugados fármaco anticuerpo se prepararon de acuerdo con los procedimientos de la presente invención.

5

Tabla 8. ADC anti-Notch.

Engarce ADC-Carga útil n.º	Nomenclatura ADC correspondiente
Notch-28-v1010-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	hu28-vc0101
Notch-28-v1010-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	hu28-vc6780
Notch-75-v1913-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	hu75-vc0101
Notch-75-v1913-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	hu75-vc6780
Notch-28-cG 1-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	ch28-vc0101
Notch-28-cG 1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	ch28-vc6780
Notch-28-cG 1-(C)_mc-n.º 54	ch28-mc0101
Notch-28-cG1-(C)_mc-0 n.º 118	ch28-mc0131
Notch-28-cG 1-(C)_mc-n.º 115	ch28-mc3377
Notch-28-cG 1-(C)_mc-n.º 69	ch28-mc8261
Notch-28-cG 1-(C)_MalPeg6C2-0 n.º 118	ch28-MalPeg6C2-0131
Notch-28-cG 1-(C)_MalPeg6C2 n.º 69	ch28-MalPeg6C2-8261
Notch-28-cG1-(C)_mc-0 n.º 118	ch28-me0131
Notch-28-cG1-(C)_m(H2O)c-0 n.º 118	ch28-m(H2O)c-0131

(continuación)

Engarce ADC-Carga útil n.º	Nomenclatura ADC correspondiente
Notch-75-cG 1-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	ch75-vc0101
Notch-75-cG 1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	ch75-vc6780
Notch-75-cG1-(C)_mc-0 n.º 118	ch75-mc0131
Notch-75-cG 1-(C)_mc-n.º 115	ch75-mc3377
Notch-75-cG 1-(C)_MalPeg6C2-0 n.º 118	ch75-MalPegC2-0131
Notch-75-cG 1-(C)_MalPeg6C2 n.º 69	ch75-MalPeg6C2-8261
Notch-75-cG1-(C)_mc-0 n.º 118	ch75-me0131
Notch-75-cG1-(C)_m(H2O)c-0 n.º 118	ch75-m(H2O)c-0131
huNeg8.8-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	huNeg8.8-vc0101
huNeg8.8-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	huNeg8.8-vc6780
huNeg8.8-(C)mc-0 n.º 118	huNeg8.8-mc0131
huNeg8.8-(C)_mc-n.º 115	huNeg8.8-mc3377
huNeg8.8-(C)me-0 n.º 118	huNeg8.8-me0131
huNeg8.8-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	huNeg8.8-MalPeg6C2-8261
ch2H6-(C)_mc-n.º 69	ch2H6-mc8261

Ensayo de citotoxicidad *in Vitro* con ADC anti-Notch

- 5 Los efectos de ADC anti-Notch se evaluaron en 1) líneas celulares que expresan endógenamente la proteína Notch: HCC2429 (cáncer pulmonar), OVCAR3 (cáncer de ovario) y MDA-MB-468 (cáncer de mama), 2) líneas celulares diseñadas por ingeniería para expresar la proteína Notch: MDA-MB-468/hNotch y U2OS/hNotch y 3) una línea celular de control negativo (SW900) usando un indicador de viabilidad celular MTS (Promega, Madison, WI). Estas líneas celulares se cultivaron con concentraciones en aumento de ADC anti-Notch, que comprenden anticuerpos anti-Notch humanizados, hu28 y hu75 y anticuerpos anti-Notch quiméricos rata-humano, ch28 y ch75, se conjugaron a diversas combinaciones de engarce-carga útil de la presente invención. Como un control de especificidad para los ADC anti-Notch, también se probaron ADC control no marcados como diana (ADC huNeg8.8 o ADC ch2H6) en las mismas líneas celulares. Después de cuatro días, se evaluó la viabilidad de cada cultivo. los valores CI_{50} se calcularon por regresión no lineal logística y se presentan como ng de Ac/ml. También se proporciona la relación fármaco anticuerpo (DAR).
- 10
- 15 La **Tabla 9** muestra valores CI_{50} (ng Ac/ml) de los tratamientos de ADC anti-Notch humanizados. Las líneas celulares HCC2429 y MDA-MB-468/hNotch tuvieron dos repeticiones individuales. Los datos demostraron que los ADC anti-Notch humanizados con diversos engarces-cargas útiles fueron activos e indujeron muerte celular en las líneas celulares cancerosas que expresan y sobreexpresan Notch HCC2429, OVCAR3, MDA-MB-468, MDA-MB-468/hNotch, U2OS/hNotch, pero no en la línea celular de control negativo SW900 que carecen de expresión Notch.
- 20 Los ADC control no marcados como diana bien carecen de potencia (LP) y por lo tanto los valores CI_{50} no se generaron como se indicó, o bien estuvieron mínimamente activos a las dosis más altas ensayadas. Los ADC anti-Notch que tienen valores CI_{50} iguales a o mayores que los valores CI_{50} para los ADC control se consideraron que carecían de potencia *in vitro* como se indica por LP.

Tabla 9. Valores CI_{50} (ng de Ac/ml) de ADC anti-Notch humanizado.

ADC	DAR	CI_{50} (ng Ab/ml) \pm S.E.M.							
		HCC2429		OVCAR3	MDA-MB-468	MDA-MB-468/hNotch		U2OS/hNotch	SW900
hu28-vc0101	3,9	473	2940	306	6545	3,2	3	1330	LP
hu75-vc0101	3,8	611	3295	515	7001	37	36	523	LP
huNeg8.8-vc0101	3,7	18417	23978	3770	LP	5122	LP	LP	23379
hu28-vc6780	3,9	148	2050	17	LP	1,3	3	LP	LP
hu75-vc6780	4,2	214	630	254	LP	26	25	LP	LP
huNeg8.8-vc6780	4,2	LP	LP	9238	LP	LP	LP	LP	LP

La **Tabla 10** muestra valores CI_{50} (ng Ac/ml) de los tratamientos de ADC anti-Notch quiméricos rata-humano. Para experimentos con 2-4 repeticiones individuales, se calcularon valores promedio CI_{50} junto con el error estándar de la media (S.E.M.). Los datos demostraron que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano con diversos engarces-cargas útiles fueron activos e indujeron muerte celular en las líneas celulares cancerosas que expresan y sobreexpresan Notch HCC2429, OVCAR3, MDA-MB-468, MDA-MB-468/hNotch, U2OS/hNotch. Los ADC control no marcados como diana bien carecen de potencia (LP) y por lo tanto los valores CI_{50} no se generaron como se indicó, o bien estuvieron mínimamente activos a las dosis más altas ensayadas. Los ADC anti-Notch que tienen valores CI_{50} iguales a o mayores que los valores CI_{50} para los ADC control se consideraron que carecían de potencia in vitro como se indica por LP.

Tabla 10. Valores CI_{50} (ng de Ac/ml) de ADC anti-Notch humanizado (nd = no determinado).

ADC	DAR	CI_{50} (ng Ab/ml) \pm S.E.M.				
		HCC2429	OVCAR3	MDA-MB-468	MDA-MB-468/hNotch	U2OS/hNotch
ch28-mc8261	3,7	LP	nd	12147 \pm 4806,4	nd	nd
ch2H6-mc8261	4,1	LP	nd	LP	nd	nd
ch28-MalPeg6C2-8261	4,3	LP	nd	83 \pm 35,5	nd	nd
ch75-MalPeg6C2-8261	3,8	LP	nd	4255 \pm 2375	nd	nd
huNeg8.8-MalPeg6C2-8261	4,1	LP	nd	LP	nd	nd
ch28-mc0131	3,4	251 \pm 77,5	6 \pm 1,0	35 \pm 18,5	nd	3 \pm 0,5
ch75-mc0131	3,3	671 \pm 406,5	289	8202 \pm 2773,0	nd	19
huNeg8.8-mc0131	3,9	Nd	LP	LP	nd	LP
ch28-me0131	3,9	30	8 \pm 2,0	24, 14,0	nd	3 \pm 1,15
ch75-me0131	3,5	Nd	nd	259	nd	nd
huNeg8.8-me0131	3,7	Nd	LP	LP	nd	LP
ch28-mc3377	3,7	LP	14 \pm 5,5	27 \pm 11,3	nd	3 \pm 0,5

(Continuación)

ADC	DAR	CI ₅₀ (ng Ab/ml) ± S.E.M.				
		HCC2429	OVCAR3	MDA-MB-468	MDA-MB-468/hNotch	U2OS/hNotch
ch75-mc3377	3,7	Nd	nd	560	nd	nd
huNeg8.8-mc3377	3,6	Nd	LP	LP	nd	LP
ch28-MalPeg6C2-0131	4,1	LP	10±2,0	10±1,0	nd	3±0,85
ch28-vc0101	3,8	3230±1116,5	635	5443±2630,9	4±0,5	95± 18,2
ch75-vc0101	2,7	2112±826,0	LP	4064±1793,9	24±4,0	LP
huNeg8.8-vc0101	3,7	15341	LP	4523±2789,5	8833	LP
ch28-vc6780	4,1	324±78,9	90±48,5	4407±2128,2	3±0,5	LP
ch75-vc6780	2,8	1004±177,0	922	6873±4230,0	21±3,5	LP
huNeg8.8-vc6780	4,1	LP	LP	LP	LP	LP

Modelos de xenoinjerto de tumor humano *in vivo* con ADC anti-Notch

5 Los anticuerpos anti-Notch humanizados, hu28 y hu75 y anticuerpos anti-Notch quiméricos rata-humano, ch28 y ch75, se conjugaron a diversas combinaciones de engarce-carga útil y se probaron en cáncer pulmonar no microcítico (NSCLC) 37622A1, cáncer pulmonar HCC2429, cáncer de mama MDA-MB-468 y modelos de xenoinjerto de cáncer gástrico N87. Para cada modelo descrito a continuación se dio la primera dosis el Día 0. Los tumores se midieron al menos una vez a la semana y su volumen se calculó con la fórmula: volumen (mm³) = 0,5 x (anchura del tumor²)(longitud del tumor). Los volúmenes medios de tumor (± S.E.M.) para cada grupo de tratamiento se calcularon teniendo un máximo de 10 animales y un mínimo de 6 animales a incluirse.

A. Xenoinjertos 37622A1 NSCLC

15 Los efectos de ADC anti-Notch se examinaron en ratones inmunodeficientes en el crecimiento *in vivo* de xenoinjertos de tumor humano que se establecieron a partir de fragmentos recientemente reseccionados de tumores 37622A1 NSCLC de acuerdo con procedimientos consentidos apropiados (Asterand). Los xenoinjertos derivados de pacientes 37622A1 NSCLC se pasaron subcutáneamente *in vivo* como fragmentos de animal a animal en ratones hembra desnudos (Nu/Nu). Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 150 a 300 mm³, se fasearon para asegurar la uniformidad del tamaño tumoral entre diversos grupos de tratamiento. El modelo 37622A1 NSCLC se dosificó intravenosamente cuatro veces cada cuatro días (Q4dx4) con vehículo PBS, ADC anti-Notch humanizados, ADC huNeg-8.8 control y cisplatino a las dosis proporcionadas en la **Tabla 11**.

20 El cisplatino es un agente anti-cáncer basado en platino usado en el tratamiento de cáncer y considerado un patrón de terapia de cuidado. El cisplatino reticula el ADN induciendo de esta manera la apoptosis e inhibiendo el crecimiento celular. Los datos demuestran que los ADC anti-Notch hu28-vc0101, hu28-vc6780, hu75-vc0101 y hu75-vc6780 inhibieron el crecimiento de xenoinjertos 37622A1 NSCLC. Además, los datos muestran que los ADC anti-Notch inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que los ADC huNeg8.8 control. Adicionalmente, los datos muestran que los ADC anti-Notch inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que el cisplatino indicando una potencia mayor que un patrón de cuidado a base de platino de fármaco quimioterapéutico.

Tabla 11. Efectividad de ADC anti-Notch en xenoinjertos 37622A1 NSCLC.

	Xenoinjertos 37622A1 NSCLC, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)							
	PBS	hu28-vc0101	hu28-vc6780	hu75-vc0101	hu75-vc6780	huNeg-8.8-vc0101	huNeg-8.8-vc6780	Cisplatino
Dosis mg/kg	0	3	10	3	10	3	10	5
DÍA-1	187 ±10	186 ±13	182 ±16	185 ±17	183 ±17	184 ±18	182 ±17	185 ±11
DÍA 4	227 ±19	202 ±16	176 ±13	200 ±16	205 ±23	225 ±17	226 ±26	226 ±15
DÍA 7	279 ±24	202 ±15	176 ±19	227 ±16	195 ±22	274 ±18	265 ±28	280 ±29
DÍA 11	371 ±42	130 ±11	122 ±10	175 ±20	147 ±23	309 ±26	246 ±30	301 ±34
DÍA 14	419 ±49	119 ±11	95 ±7	156 ±19	118 ±18	303 ±26	277 ±41	345 ±47
DÍA 18	516 ±63	71 ±6	65 ±6	112 ±16	93 ±14	298 ±28	219 ±31	309 ±37
DÍA 21	562 ±65	55 ±6	56 ±6	122 ±27	98 ±20	320 ±41	218 ±42	373 ±50
DÍA 25	610 ±78	49 ±6	51 ±6	137 ±33	93 ±24	315 ±52	264 ±52	401 ±58
DÍA 28	624 ±94	41 ±7	51 ±8	161 ±53	99 ±26	358 ±61	246 ±51	446 ±64
DÍA 32	817 ±99	42 ±13	72 ±15	175 ±52	165 ±45	398 ±64	332 ±77	482 ±62
DÍA 35	900 ±104	42 ±11	92 ±21	271 ±79	229 ±59	487 ±79	384 ±94	587 ±80
DÍA 39	960 ±117	62 ±26	120 ±31	319 ±103	294 ±78	569 ±102	431 ±114	591 ±83
DÍA 42	931 ±108	75 ±34	151 ±37	357 ±113	318 ±71	590 ±101	495 ±128	612 ±92
DÍA 46	1037102	92 ±44	172 ±47	431 ±137	412 ±106	743 ±133	610 ±165	723 ±119
DÍA 49	1119 ±120	120 ±63	248 ±62	519 ±135	521 ±132	810 ±121	718 ±202	853 ±139
DÍA 53	1345 ±158	144 ±67	339 ±93	678 ±195	629 ±162	989 ±146	848 ±251	970 ±193
DÍA 56	1485 ±185	126 ±51	376 ±100	818 ±251	808 ±196	1149 ±191	776 ±184	1215 ±231
DÍA 60	1691 ±220	180 ±85	503 ±138	710 ±162	917 ±209	1287 ±194	964 ±232	1428 ±273
DÍA 63	1736 ±193	223 ±111	604 ±160	824 ±191	917 ±147	1503 ±227	1097 ±254	-

(Continuación)

Xenoinjertos 37622A1 NSCLC, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)								
	PBS	hu28-vc0101	hu28-vc6780	hu75-vc0101	hu75-vc6780	huNeg-8.8-vc0101	huNeg-8.8-vc6780	Cisplatino
Dosis mg/kg	0	3	10	3	10	3	10	5
DÍA 67	-	296 ±152	888 ±272	938 ±202	1116 ±173	1600 ±251	1167 ±260	-
DÍA 70	-	312 ±162	773 ±235	953 ±209	1181 ±203	-	1352 ±305	-
DÍA 74	-	331 ±160	881 ±264	-	-	-	-	-
DÍA 77	-	422 ±210	1029 ±325	-	-	-	-	-
DÍA 81	-	510 ±248	-	-	-	-	-	-
DÍA 84	-	622 ±322	-	-	-	-	-	-

B. Xenoinjertos de pulmón HCC2429

Se realizaron experimentos similares in vivo con la línea celular pulmonar HCC2429 como se describe anteriormente. Para generar los xenoinjertos, los ratones femeninos (Nu/Nu) desnudos se implantaron subcutáneamente con células 3,5x10⁶ HCC2429 en Mariel al 50 % (BD Vasculares). Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 200 a 400 mm³, los tumores se fasearon para asegurar la uniformidad de la masa tumoral entre diversos grupos de tratamiento. El modelo pulmonar HCC2429 se dosificó intravenosamente Q4dx4 con vehículo PBS, los ACD anti-Notch humanizados y los ADC control huNeg-8.8 a las dosis proporcionadas en las **Tablas 12 y 13**. Los datos demuestran que los ADC anti-Notch hu28-vc0101, hu28-vc6780, hu75-vc0101 y hu75-vc6780 inhibieron el crecimiento de los xenoinjertos de pulmón HCC2429 de una manera dependiente de dosis. Además, los datos muestran que los ADC anti-Notch inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que los ADC huNeg8.8 control y las dosis 1 y 3 mg/kg para ADC anti-Notch con engarces-cargas útiles vc0101 y a las dosis 3 y 10 mg/kg para ADC anti-Notch con engarces-cargas útiles vc6780. Adicionalmente, los datos demuestran que una dosis 3 mg/kg de hu28-vc0101 fue más potente que una dosis 10 mg/kg de hu28-vc6780.

Tabla 12. Efectividad de ADC anti-Notch-vcO 101 en xenoinjertos de pulmón HCC2429.

Xenoinjertos de pulmón HCC2429, volumen tumoral (mm ³ +/- SEM)										
	PBS	hu28-vc0101			hu75-vc0101			huNeg-8.8-vc0101		
Dosis mg/kg	0	3	1	0,3	3	1	0,3	3	1	0,3
DÍA -1	245 ± 24	245 ±23	246 ±26	246 ±30	245 ±28	246 ±23	247 ±29	244 ±30	245 ±33	246 ±27
DÍA 1	529 ±52	548 ±52	532 ±36	528 ±50	498 ±39	548 ±37	524 ±66	482 ±59	519 ±72	514 ±50
DÍA 3	742 ±73	606 ±78	757 ±68	733 ±78	498 ±44	753 ±93	713 ±74	695 ±91	756 ±	724 ±73
DÍA 6	1205 ±120	723 ±101	1095 ±119	1112 ±132	469 ±70	1096 ±146	1078 ±74	1075 ±132	1144 ±100	1207 ±100
DÍA 8	1720 ±181	696 ±100	1324 ±173	1617 ±172	407 ±71	1428 ±200	1499 ±115	1404 ±183	1598 ±133	1683 ±165
DÍA 10	2312 ±197	620 ±90	1606 ±250	2027 ± 233	370 ±81	1611 ±189	1830 ±120	1735 ±253	1974 ±185	2163 ±260

(Continuación)

Xenoinjertos de pulmón HCC2429, volumen tumoral (mm ³ +/- SEM)										
	PBS	hu28-vc0101			hu75-vc0101			huNeg-8.8-vc0101		
Dosis mg/kg	0	3	1	0,3	3	1	0,3	3	1	0,3
DÍA 13	3235 ±120	543 ±92	1717 ±223	2642 ± 297	273 ±69	1803 ±208	2408 ±226	2162 ±376	2676 ±346	2589 ±287
DÍA 15	-	512 ±111	1865 ±263	-	298 ±88	1871 ±232	-	-	-	-
DÍA 17	-	442 ±114	2228 ±333	-	250 ±77	1948 ±228	-	-	-	-
DÍA 20	-	428 ±144	-	-	177 ±44	-	-	-	-	-
DÍA 23	-	405 ±149	-	-	160 ±35	-	-	-	-	-
DÍA 27	-	422 ±164	-	-	174 ±51	-	-	-	-	-
DÍA 30	-	394 ±182	-	-	196 ±72	-	-	-	-	-
DÍA 34	-	505 ± 236	-	-	295 ±121	-	-	-	-	-
DÍA 37	-	606 ± 283	-	-	433 ±179	-	-	-	-	-
DÍA 41	-	750 ± 361	-	-	606 ±259	-	-	-	-	-
DÍA 45	-	872 ± 415	-	-	836 ±359	-	-	-	-	-
DÍA 49	-	558 ± 303	-	-	732 ±350	-	-	-	-	-
DÍA 52	-	571 ± 310	-	-	-	-	-	-	-	-
DÍA 56	-	704 ± 399	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 13. Efectividad de ADC anti-Notch-vc6780 en xenoinjertos de pulmón HCC2429.

Xenoinjertos de pulmón HCC2429, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)										
	PBS	hu28-vc6780			hu75-vc6780			huNeg-8.8-vc6780		
Dosis mg/kg	0	10	3	1	10	3	1	10	3	1
DÍA -1	245 ±28	244 ±22	245 ± 24	245 ±27	244 ±19	246 ± 30	245 ±16	244 ±22	244 ±26	245 ±20
DÍA 1	398 ±50	369 ±31	379 ± 45	400 ±66	407 ±43	403 ± 51	418 ±34	429 ± 56	427 ±49	402 ±53
DÍA 3	701 ±102	318 ±31	493 ± 65	579 ±113	339 ±36	526 ± 74	629 ± 65	619 ±62	689 ±83	655 ±97

(Continuación)

	Xenoinjertos de pulmón HCC2429, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)									
	PBS	hu28-vc6780			hu75-vc6780			huNeg-8.8-vc6780		
Dosis mg/kg	0	10	3	1	10	3	1	10	3	1
DÍA 5	949 ±140	228 ±28	609 ± 82	826 ±191	251 ±33	615 ± 98	916 ±97	808 ±101	965 ±114	837 ±117
DÍA 7	1345 ±200	172 ±22	638 ± 86	1023 ±259	225 ±24	615 ±115	1164 ±131	1072 ±154	1380 ±136	1099 ±172
DÍA 10	2045 ±356	143 ±22	784 ±115	1439 ±398	198 ±24	717 ±129	1705 ±184	1452 ± 210	2082 ±192	1722 ±363
DÍA 12	-	134 ±20	883 ±132	1442 ±487	166 ±22	807 ±130	2029 ±270	1673 ± 290	2701 ±228	1586 ±337
DÍA 14	-	115 ±16	895 ±175	-	150 ±22	831 ±145	2294 ±287	1809 ± 314	-	-
DÍA 17	-	127 ±18	1105 ±253	-	158 ±32	1017 ±178	-	-	-	-
DÍA 20	-	149 ±27	1219 ±311	-	164 ±48	1297 ±231	-	-	-	-
DÍA 24	-	206 ±60	1618 ±468	-	261 ±89	1813 ±343	-	-	-	-
DÍA 27	-	290 ±100	-	-	316 ±135	1970 ±462	-	-	-	-
DÍA 31	-	378 ±150	-	-	438 ± 201	-	-	-	-	-
DÍA 34	-	551 ±244	-	-	423 ±177	-	-	-	-	-
DÍA 38	-	718 ±332	-	-	504 ± 203	-	-	-	-	-
DÍA 42	-	1011 ±504	-	-	655 ± 266	-	-	-	-	-
DÍA 46	-	-	-	-	793 ± 320	-	-	-	-	-
DÍA 49	-	-	-	-	901 ± 351	-	-	-	-	-
DÍA 53	-	-	-	-	1228 ± 472	-	-	-	-	-

5 El modelo pulmonar HCC2429 se dosificó intravenosamente Q4dx4 con vehículo PBS, ADC anti-Notch quiméricos rata-humano y ADC huNeg-8.8 control, a una dosis de 5 mg/kg como se proporciona en la **Figura 8A**. Los datos demuestran que los ADC anti-Notch con engarces no escindibles (mc) y escindibles (vc) y diversas combinaciones de cargas útiles inhibieron el crecimiento de xenoinjertos de pulmón HCC2429. Además, los datos muestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que los ADC huNeg8.8 control. Adicionalmente, los datos demuestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano con engarces-cargas útiles vc0101 fueron más potentes que los otros ADC anti-Notch probados.

C. Xenoinjertos de mama MDA-MB-468

10 Se realizaron experimentos similares in vivo con la línea celular de cáncer de mama MDA-MB-468 como se describe anteriormente. Las células MDA-MB-468 se clasifican como un subtipo tipo basal de cáncer de mama triple negativo

(TNBC) ya que carecen de la expresión del receptor de estrógeno, del receptor de progesterona y el receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico (HER2) (Lehmann, BD, y col., J Clin Invest. 2011;121(7):2750-2767). Para generar los xenoinjertos, se implantaron ortopédicamente ratones hembra SCID Outbred sin pelo (SHO) con células 10×10^6 MDA-MB-468 que contienen Mariel al 50 % (BD Vasculares) en la almohadilla grasa mamaria. Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 250 a 450 mm³, los tumores se fasearon para asegurar la uniformidad de la masa tumoral entre diversos grupos de tratamiento. El modelo en mama MDA-MB-468 se dosificó intravenosamente Q4dx4 con vehículo PBS, los ADC anti-Notch humanizados y los ADC control huNeg-8.8 a las dosis proporcionadas en las **Tablas 14 y 15**. Los datos demuestran que los ADC anti-Notch hu28-vc0101, hu28-vc6780, hu75-vc0101 y hu75-vc6780 inhibieron el crecimiento de los xenoinjertos de mama MDA-MB-468 de una manera dependiente de dosis. Además, los datos muestran que los ADC anti-Notch inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que los ADC huNeg8.8 control y las dosis 1 y 3 mg/kg para ADC con engarces-cargas útiles vc0101 y a las dosis 1,3 y 10 mg/kg para ADC con engarces-cargas útiles vc6780. Adicionalmente, los datos demuestran que una dosis 1 mg/kg de ADC anti-Notch con engarces-cargas útiles vc0101 fueron más potentes que una dosis 3 mg/kg de ADC anti-Notch con engarces-cargas útiles vc6780.

Tabla 14. Efectividad de ADC anti-Notch-vcO 101 en xenoinjertos de mama MDA-MB-468.

Dosis mg/kg	Xenoinjertos de mama MDA-MB-468, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)									
	PBS	hu28-vc0101			hu75-vc0101			huNeg-8.8-vc0101		
	0	3	1	0,3	3	1	0,3	3	1	0,3
DÍA 0	343 ±12	347 ±15	348 ±22	336 ±19	347 ±20	347 ±22	348 ±21	334 ±23	346 ±16	344 ±19
DÍA 4	441 ±24	359 ±24	439 ±21	403 ±28	444 ±28	410 ±32	439 ±31	424 ±29	447 ±32	442 ±19
DÍA 7	469 ±32	326 ±27	415 ±25	395 ±38	338 ±20	383 ±33	435 ±27	411 ±26	449 ±20	438 ±23
DÍA 11	495 ±28	227 ±27	372 ±34	412 ±42	277 ±22	373 ±33	504 ±38	439 ±36	538 ±23	496 ±37
DÍA 14	581 ±35	147 ±20	314 ±27	488 ±45	181 ±19	350 ±40	507 ±30	445 ±29	592 ±47	560 ±36
DÍA 18	639±43	77 ±10	261 ±33	497 ±55	90 ±12	296 ±33	587 ±44	479 ±42	619 ±42	578 ±36
DÍA 21	638±46	16 ±8	219 ±41	509 ±60	60 ±9	260 ±49	590 ±55	481 ±34	676 ±46	627 ±30
DÍA 26	707 ±41	0 ±0	253 ±61	590 ±66	16 ±10	267 ±59	652 ±64	548 ±41	793 ±54	671 ±56
DÍA 29	749 ±59	0 ±0	238 ±64	-	8 ±8	261 ±62	675 ±63	-	819 ±73	669 ±37
DÍA 32	812 ±80	0 ±0	266 ±67	-	7 ±7	264 ±67	738 ±70	-	913 ±72	758 ±44
DÍA 35	891 ±79	0 ±0	271 ±73	-	0 ±0	326 ±86	821 ±69	-	1023 ±96	848 ±58
DÍA 39	892 ±84	0 ±0	310 ±88	-	0 ±0	324 ±81	864 ±74	-	-	884 ±64
DÍA 42	1037 ±104	0 ±0	349 ±95	-	0 ±0	381 ±94	997 ±84	-	-	1002 ±55
DÍA 47	1173 ±134	0 ±0	394 ±123	-	±0	442 ±69	-	-	-	1145 ±78
DÍA 50	-	0 ±0	377 ±118	-	0 ±0	484 ±89	-	-	-	1120 ±67
DÍA 53	-	0 ±0	414 ±127	-	0 ±0	452 ±78	-	-	-	1229 ±100
DÍA 56	-	0 ±0	470 ±128	-	0 ±0	535 ±93	-	-	-	1314 ±120
DÍA 60	-	0 ±0	532 ±140	-	0 ±0	603 ±98	-	-	-	-
DÍA 63	-	0 ±0	509 ±117	-	0 ±0	-	-	-	-	-
DÍA 67	-	0 ±0	611 ±148	-	0 ±0	-	-	-	-	-
DÍA 70	-	0 ±0	-	-	0 ±0	-	-	-	-	-

Tabla 15. Efectividad de ADC anti-Notch-vc6780 en xenoinjertos de mama MDA-MB-468.

	Xenoinjertos de mama MDA-MB-468, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)									
	PBS	hu28-vc6780			hu75-vc6780			huNeg-8.8-vc6780		
Dosis mg/kg	0	10	3	1	10	3	1	10	3	1
DÍA 0	342 ±9	335 ±9	342 ±18	342 ±16	343 ±10	344 ±11	340 ±14	339 ±18	341 ±12	346 ±16
DÍA 4	466 ±20	395 ±19	394 ±33	462 ±22	418 ±15	406 ±22	423 ±27	432 ±45	457 ±23	466 ±29
DÍA 7	481 ±17	350 ±19	399 ±24	452 ±30	370 ±18	378 ±21	434 ±29	449 ±45	529 ±24	528 ±25
DÍA 11	611 ±44	248 ±26	380 ±25	512 ±35	302 ±21	403 ±21	471 ±39	504 ±38	599 ±23	621 ±43
DÍA 14	610 ±19	154 ±23	401 ±30	507 ±38	228 ±19	370 ±28	470 ±44	503 ±64	622 ±31	639 ±48
DÍA 19	707 ±34	65 ±17	438 ±39	538 ±47	112 ±23	339 ±19	536 ±49	437 ±54	697 ±36	713 ±48
DÍA 22	-	25 ±16	414 ±41	551 ±48	52 ±21	360 ±17	552 ±44	415 ±54	-	-
DÍA 25	-	26 ±19	491 ±37	575 ±55	63 ±25	381 ±23	597 ±48	421 ±76	-	-
DÍA 28	-	15 ±15	497 ±68	654 ±74	64 ±26	443 ±33	660 ±53	451 ±84	-	-
DÍA 32	-	0 ±0	524 ±69	653 ±82	71 ±31	437 ±28	634 ±74	456 ±94	-	-
DÍA 35	-	0 ±0	-	734 ±89	85 ±38	495 ±33	742 ±80	541 ±108	-	-
DÍA 40	-	0 ±0	-	761 ±99	125 ±44	535 ±41	794 ±87	563 ±109	-	-
DÍA 43	-	0 ±0	-	816 ±122	134 ±42	619 ±47	878 ±78	581 ±120	-	-
DÍA 46	-	0 ±0	-	859 ±126	143 ±42	636 ±38	868 ±99	617 ±116	-	-
DÍA 49	-	0 ±0	-	948 ±178	159 ±44	723 ±71	996 ±109	733 ±129	-	-
DÍA 53	-	0 ±0	-	1008 ±192	201 ±63	795 ±67	-	758 ±163	-	-
DÍA 56	-	0 ±0	-	-	211 ±63	819 ±77	-	-	-	-
DÍA 60	-	0 ±0	-	-	240 ±63	976 ±115	-	-	-	-
DÍA 63	-	0 ±0	-	-	201 ±57	-	-	-	-	-

El modelo de mama MDA-MB-468 también se dosificó intravenosamente Q4dx4 con vehículo PBS, ADC anti-Notch quiméricos rata-humano y ADC huNeg-8.8 control, a una dosis de 5 mg/kg como se proporciona en las Figura 8B y

8C. Los datos demuestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano con engarces no escindibles (mc) y escindibles (vc) y diversas combinaciones de cargas útiles inhibieron el crecimiento de xenoinjertos de mama MDA-MB-468. Además, los datos muestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que los ADC huNeg8.8 control. Adicionalmente, los datos demuestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano con engarces-cargas útiles vc0101 fueron más potentes que los otros ADC anti-Notch quiméricos rata-humano probados.

D. Xenoinjertos gástricos N87

Se realizaron experimentos similares in vivo con la línea celular gástrica N87 como se describe anteriormente. Para generar los xenoinjertos, los ratones femeninos (Nu/Nu) desnudos se implantaron subcutáneamente con células N87 $7,5,5 \times 10^6$ en Mariel al 50 % (BD Vasculares). Cuando los tumores alcanzaron un volumen de 250 a 450 mm³, los tumores se fasearon para asegurar la uniformidad de la masa tumoral entre diversos grupos de tratamiento. El modelo gástrico N87 se dosificó intravenosamente Q4dx4 con vehículo PBS, ACD anti-Notch humanizados, ADC huNeg-8.8 control y cisplatino a las dosis proporcionadas en las Tablas 16 y 17. Los datos demuestran que los ADC anti-Notch hu28-vc0101, hu28-vc6780, hu75-vc0101 y hu75-vc6780 inhibieron el crecimiento de los xenoinjertos gástricos N87 de una manera dependiente de dosis. Además, los datos muestran que los ADC anti-Notch inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que los ADC huNeg8.8 control a las dosis 1,3, 5 mg/kg para ADC con engarces-cargas útiles vc0101 y 3 y 10 mg/kg dosis para ADC con engarces-cargas útiles vc6780. Adicionalmente, los datos demuestran que los ADC con engarces-cargas útiles vc0101 fueron en general más potentes que el cisplatino patrón de terapia de cuidado y ADC con engarces-cargas útiles vc6780.

Tabla 16. Efectividad de ADC anti-Notch-vcO 101 en xenoinjertos gástricos N87.

Dosis mg/kg	Xenoinjertos gástricos N87, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)										
	PBS	hu28-vc0101			hu75-vc0101			huNeg-8.8-vc0101			Cisplatino
	0	1	3	5	1	3	5	1	3	5	5
DÍA 0	327 ±11	321 ±21	326 ±13	321 ±8	321 ±9	324 ±19	320 ±11	327 ±18	324 ±11	321 ±16	328 ±20
DÍA 4	526 ±19	369 ±18	339 ±11	344 ±14	392 ±15	362 ±35	315 ±15	437 ±34	478 ±19	423 ±32	414 ±27
DÍA 7	706 ±27	429 ±43	302 ±10	272 ±7	417 ±25	303 ±21	246 ±12	584 ±54	625 ±34	512 ±34	520 ±26
DÍA 11	854 ±36	304 ±30	182 ±14	152 ±13	331 ±21	174 ±14	156 ±10	702 ±60	716 ±53	501 ±38	501 ±29
DÍA 14	887 ±45	282 ±25	191 ±5	155 ±13	305 ±17	172 ±10	151 ±7	822 ±65	823 ±42	549 ±37	637 ±31
DÍA 18	1045 ±68	263 ±24	161 ±7	138 ±11	267 ±17	151 ±10	128 ±6	823 ±73	789 ±33	491 ±51	-
DÍA 21	1072 ±76	227 ±23	123 ±15	110 ±9	218 ±23	130 ±5	115 ±7	857 ±78	785 ±35	413 ±50	-
DÍA 26	1303 ±140	205 ±32	108 ±16	69 ±16	185 ±24	92 ±14	82 ±10	895 ±126	825 ±62	343 ±63	-
DÍA 29	1276 ±139	180 ±30	99 ±14	50 ±13	211 ±37	104 ±16	75 ±12	957 ±126	879 ±72	411 ±89	-
DÍA 33	1480 ±183	211 ±43	106 ±17	43 ±14	251 ±53	91 ±18	73 ±12	988 ±180	966 ±98	411 ±89	-
DÍA 36	-	215 ±42	122 ±22	52 ±16	272 ±59	86 ±18	85 ±9	884 ±143	1023 ±106	481 ±86	-
DÍA 39	-	261 ±54	128 ±23	45 ±14	304 ±72	59 ±16	72 ±13	937 ±167	1142 ±121	535 ±128	-
DÍA 42	-	283 ±52	149 ±25	34 ±15	314 ±73	81 ±22	74 ±13	1008 ±179	1240 ±143	596 ±119	-
DÍA 47	-	262 ±64	105 ±19	25 ±14	334 ±95	80 ±25	36 ±8	1061 ±210	1380 ±153	621 ±137	-
DÍA 53	-	302 ±75	104 ±30	29 ±16	393 ±115	86 ±24	69 ±13	-	-	757 ±189	-
DÍA 62	-	415 ±111	116 ±47	33 ±18	463 ±155	106 ±35	50 ±15	-	-	690 ±122	-
DÍA 70	-	521 ±135	139 ±54	58 ±30	658 ±241	148 ±54	76 ±22	-	-	852 ±150	-

Tabla 17. Efectividad de ADC anti-Notch-vc6780 en xenoinjertos gástricos N87.

Dosis mg/kg	Xenoinjertos gástricos N87, volumen tumoral (mm ³ ± SEM)								
	PBS	hu28-vc6780			hu75-vc6780			huNeg8.8-vc6780	
	0	10	3	1	10	3	1	10	3
DÍA 0	345 ±14	350 ±14	349 ±10	348 ±13	349 ±8	351 ±20	359 ±16	356 ±20	344 ±14
DÍA 4	600 ±16	434 ±24	552 ±24	560 ±26	468 ±18	545 ±37	552 ±40	581 ±60	537 ±36
DÍA 8	675 ±20	379 ±12	545 ±37	592 ±44	351 ±24	511 ±31	568 ±62	605 ±67	670 ±45
DÍA 11	763 ±54	315 ±18	511 ±25	617 ±48	316 ±25	544 ±43	591 ±63	636 ±79	706 ±38
DÍA 14	886 ±72	292 ±24	564 ±29	782 ±60	269 ±27	558 ±36	666 ±77	775 ±117	917 ±36
DÍA 18	997 ±93	199 ±18	479 ±29	797 ±88	224 ±26	494 ±41	642 ±90	665 ±112	958 ±57
DÍA 21	1041 ±107	194 ±20	499 ±34	839 ±93	192 ±19	534 ±41	710 ±117	637 ±119	1002 ±59
DÍA 25	1151 ±144	181 ±21	588 ±40	878 ±105	227 ±32	628 ±58	748 ±138	647 ±134	1075 ±82
DÍA 28	1200 ±155	204 ±16	672 ±48	904 ±123	244 ±35	645 ±57	763 ±145	674 ±146	1148 ±77
DÍA 33	1481 ±206	196 ±27	786 ±65	1043 ±152	267 ±52	730 ±66	991 ±239	733 ±195	1290 ±128
DÍA 36	-	189 ±37	827 ±69	1108 ±185	300 ±64	850 ±74	-	817 ±222	1265 ±111
DÍA 39	-	228 ±44	847 ±77	1204 ±209	323 ±69	881 ±88	-	880 ±247	1429 ±121
DÍA 42	-	257 ±60	959 ±81	-	350 ±78	1020 ±99	-	797 ±244	-
DÍA 46	-	253 ±59	1018 ±94	-	380 ±78	1097 ±129	-	874 ±267	-
DÍA 50	-	253 ±67	1111 ±95	-	415 ±77	1162 ±134	-	-	-
DÍA 56	-	298 ±85	1279 ±108	-	504 ±111	1331 ±187	-	-	-
DÍA 63	-	345 ±93	1368 ±133	-	581 ±121	-	-	-	-
DÍA 70	-	376 ±117	1483 ±154	-	726 ±163	-	-	-	-
DÍA 77	-	388 ±123	-	-	797 ±184	-	-	-	-

El modelo gástrico N87 también se dosificó intravenosamente Q4dx4 con vehículo PBS, ADC anti-Notch quiméricos rata-humano y ADC huNeg-8.8 control, a una dosis de 5 mg/kg como se proporciona en la **Figura 8D**. Los datos

5 demuestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano con engarces no escindibles (mc) y escindibles (vc) y diversas combinaciones de cargas útiles inhibieron el crecimiento de xenoinjertos gástricos N87. Además, los datos muestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano inhibieron el crecimiento tumoral más potentemente que los ADC huNeg8.8 control. Adicionalmente, los datos demuestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano con engarces-cargas útiles vc0101 fueron más potentes que los otros ADC anti-Notch probados.

10 El modelo gástrico N87 también se dosificó intravenosamente Q4dx4 con vehículo PBS y ADC antiNotch quiméricos rata-humano ch28-mc0131, ch75-mc0131, ch28-m(H₂O)c-0131 y ch75-m(H₂O)c-0131 a una dosis de 5 mg/kg como se proporciona en la **Figura 8E**. Los datos demuestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano que tienen engarces-cargas útiles mc0131 y m(H₂O)c-0131 inhibieron el crecimiento de xenoinjertos gástricos N87. Además, los datos demuestran que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano con engarces-cargas útiles m(H₂O)c-0131 fueron más potentes que los ADC anti-Notch quiméricos rata-humano que tienen engarces-cargas útiles mc0131.

Tabla 18A - Compuestos seleccionados (péptidos citotóxicos con engarces) de la invención y Ejemplos de Referencia

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
mcV alCitP ABC-n.º 34	Procedimiento general E	Procedimiento D	4,7 (12 %)
MalPeg3C2-n.º 41	Procedimiento general D	Procedimiento C	36 (28 %)
MalPeg6C2-n.º 42	Procedimiento general D	Procedimiento C	125 (88 %)
mc-n.º 44	Procedimiento general D	Procedimiento C	5,9 (25 %)
MalPeg3C2-n.º 44	Procedimiento general D	Procedimiento C	10 (28 %)
MalPeg6C2-n.º 44	Procedimiento general D	Procedimiento C	1,8 (6 %)
MalValCitPABC-n.º 44	Procedimiento general E	Procedimiento F	4 (10 %)
mc-n.º 45	Procedimiento general D	Procedimiento C	12,8 (53 %)
MalPeg3C2-n.º 45	Procedimiento general D	Procedimiento C	7,5 (28 %)
MalPeg6C2-n.º 45	Procedimiento general D	Procedimiento E1*	13,6 (45 %)
mcValCitPABC-n.º 45	Procedimiento general E	Procedimiento C y Procedimiento E1	5,8 (15 %)
mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general E	Procedimiento D	33 (36 %)
mc-n.º 69	Procedimiento general D	Procedimiento C	30,2 (24 %)
MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general D	Procedimiento C	3,6 (13 %)
mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general E	Procedimiento I	51 (9 %)
mcValCitPABC-n.º 70	Procedimiento general E	Procedimiento D	6,9 (12 %)

ES 2 657 014 T3

(continuación)

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
mcValCitPABC-n.º 75	Procedimiento general E	Procedimiento H	5,3 (14 %)
mc-n.º 79	Procedimiento general D	Procedimiento E	5,6 (19 %)
mcValCitPABC-n.º 79	Procedimiento general E	Procedimiento D	5,5 (10 %)
mcValCitPABC-n.º 92	Procedimiento general E	Procedimiento E	9,5 (26 %)
mcValCitP ABC-n.º 112	Procedimiento general E	Procedimiento C	11,8 (21 %)
mv-n.º 115	Procedimiento general D	Procedimiento J	1,4 (3,3 %)
mc-n.º 115	-	Procedimiento L	124 (11 %)
mb-n.º 115	Procedimiento general D	-	-
me-n.º 115	Procedimiento general D	-	-
mcValCitPABC-n.º 115	Procedimiento general E	Procedimiento K	4,9 (12 %)
mc-n.º 51	Procedimiento general D	Procedimiento E1	5,5 (42 %)
mc-n.º 47	Procedimiento general D	Procedimiento E1	8,4 (46 %)
mc-n.º 54	Procedimiento general D	Procedimiento E1	12,9 (65 %)
mcValCitPABC-n.º 47	Procedimiento general E	Procedimiento E1	3,3 (20 %)
mcValCitPABC-n.º 26	Procedimiento general E	Procedimiento E1	2,3 (20 %)
mc-n.º 26	Procedimiento general D	Procedimiento E1	5,4 (10 %)
mcValCitPABC-n.º 42	Procedimiento general E	Procedimiento E1	10,8 (38 %)
mcValCitPABC-n.º 36	Procedimiento general E	Procedimiento E1	12,6 (32 %)
mc-n.º 42	Procedimiento general D	Procedimiento E1	7,1 (83 %)
AmPeg6C2-n.º 54	Procedimiento general N	Procedimiento J	44 (67 %)
MalPeg3C2-n.º 54	Procedimiento general D	Procedimiento J	19 (69 %)

(continuación)

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 54	Procedimiento general O	Procedimiento J	12 (42 %)
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 54	Procedimiento general O	Procedimiento J	12,4 (30 %)
MalPeg3C2-n.º 47	Procedimiento general D	Procedimiento J*	19 (62 %)
AmPeg6C2-n.º 47	Procedimiento general N	Procedimiento J	50 (77 %)
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 47	Procedimiento general O	Procedimiento J	6,4 (18 %)
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 47	Procedimiento general O	Procedimiento J	18 (50 %)
MalPeg3C2-n.º 42	Procedimiento general D	Procedimiento J	22 (70 %)
AmPeg6C2-n.º 42	Procedimiento general N	Procedimiento J	53 (75 %)
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 42	Procedimiento general O	Procedimiento J	15,4 (43 %)
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 42	Procedimiento general O	Procedimiento J*	12 (26 %)
MalPeg3C2-n.º 26	Procedimiento general D	Procedimiento J*	13,8 (51 %)
mc-n.º 41	Procedimiento general D	Procedimiento J*	9,6 (38 %)
AmPeg6C2-n.º 26	Procedimiento general N	Procedimiento J	59 (87 %)
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 26	Procedimiento general O	Procedimiento J	23,4 (45 %)
MalPeg3C2ValCitPABC-n.º 26	Procedimiento general P	Procedimiento J	16 (42 %)
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 26	Procedimiento general O	Procedimiento J	15 (38 %)
mc-n.º 36	Procedimiento general D	Procedimiento J*	26 (80 %)
MalPeg6C2-n.º 54	Procedimiento general D	Procedimiento J	27 (67 %)
MalPeg3C2ValCitPABC-n.º 47	Procedimiento general P	Procedimiento J	17 (49 %)
MalPeg3C2-n.º 36	Procedimiento general D	Procedimiento J*	9,2 (33 %)
MalPeg6C2-n.º 47	Procedimiento general D	Procedimiento J*	24 (78 %)

ES 2 657 014 T3

(continuación)

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
MalPeg6C2-n.º 26	Procedimiento general D	Procedimiento J*	29 (75 %)
MalPeg6C2-n.º 36	Procedimiento general D	Procedimiento J	18 (58 %)
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	Procedimiento general O	Procedimiento J	16 (51 %)
AmPeg6C2-n.º 36	Procedimiento general N	Procedimiento J	51 (78 %)
mcValCitPABC-n.º 60	Procedimiento general E	Procedimiento J	1,9 (4,3 %)
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 36	Procedimiento general O	Procedimiento J	11,6 (35 %)
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 41	Procedimiento general O	Procedimiento J	5,7 (26 %)
MalPeg6C2-n.º 60	Procedimiento general D	Procedimiento J	24 (75 %)
AmPeg6C2-n.º 60	Procedimiento general N	Procedimiento J	31 (80 %)
MalPeg3C2-n.º 60	Procedimiento general D	Procedimiento J	17,3 (58 %)
MalPeg6C2-n.º 41	Procedimiento general D	Procedimiento J con AcOH como modificador	11 (28 %)
AmPeg6C2-n.º 66	Procedimiento general N	Procedimiento J	5 (10 %)
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 60	Procedimiento general O	Procedimiento J	12 (34 %)
mc-n.º 70	Procedimiento general D	Procedimiento J*	11,2 (46 %)
2AcAmPeg6C2-n.º 66	Procedimiento general Q	Procedimiento J	8 (60 %)
mc-n.º 66	Procedimiento general D	Procedimiento J con AcOH como modificador	8,2 (32 %)
mcValCitPABC-n.º 88	Procedimiento general E	Procedimiento J	7,9 (45 %)
mcValCitPABC-n.º 88	Procedimiento general E	Procedimiento J	7,5 (39 %)
mc-n.º 92	Procedimiento general D	Procedimiento F	15 (66 %)
mcValCitPABC-n.º 44	Procedimiento general E	Procedimiento F	1,6 (4 %)
mc-n.º 108	Procedimiento general D	Procedimiento H sin modificador	8,8 (37 %)

ES 2 657 014 T3

(continuación)

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
mcValCitPABC-n.º 108	Procedimiento general E	Procedimiento F	6,1 (14 %)
NHSCOPeg2C2ValCitPABC-n.º 66	Procedimiento general X2	Procedimiento F*	6,8 (32 %)
mcValCitPABC-n.º 98	Procedimiento general E	Procedimiento J*	4,8 (11 %)
mcValCitPABC-n.º 95	Procedimiento general E	Procedimiento J*	13 (28 %)
MalPeg3C2-n.º 69	Procedimiento general D	Procedimiento K	12,8 (35 %)
AmPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general N	Procedimiento J*	71 (69 %)
mcValCitPABC-n.º 84	Procedimiento general E	Procedimiento J*	4,9 (11 %)
AmCapValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general R	Procedimiento K*	97 (53 %)
mcValCitPABC-n.º 226	Procedimiento general E	Procedimiento J*	7,1 (16 %)
mcValCitP ABC-n.º 117	Procedimiento general E	Procedimiento J*	15,8 (36 %)
MalPeg6C2-n.º 98	Procedimiento general D	Procedimiento I*	7,4 (22 %)
mcValCitPABC-n.º 118	Procedimiento general E	Procedimiento J*	11,7 (29 %)
mcValCitPABC-n.º 80	Procedimiento general E	Procedimiento J*	3,8 (12 %)
MalPeg6C2-n.º 118	Procedimiento general D	Procedimiento J*	11 (4,5 %)
MalPeg6C2-n.º 230	Procedimiento general D	Procedimiento H	2,8 (8 %)
mcValCitP ABC-n.º 232	Procedimiento general E	Procedimiento J*	13,6 (29 %)
mc-n.º 117	Procedimiento general D	Procedimiento J*	9,5 (40 %)
MalPeg6C2-n.º 117	Procedimiento general D	Procedimiento K*	2,3 (8 %)
mv-n.º 69	Procedimiento general D	Procedimiento J*	22 (49 %)
mb-n.º 69	Procedimiento general D	Procedimiento J*	12 (28 %)
AmPeg6C2-n.º 234	Procedimiento general N	Procedimiento J*	16 (52 %)

ES 2 657 014 T3

(continuación)

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
AmPeg6C2-n.º 235	Procedimiento general N	Procedimiento J*	16,5 (70 %)
mc-n.º 118	Procedimiento general D	Procedimiento J*	41 (38 %)
MalPeg6C2-n.º 123	Procedimiento general D	Procedimiento J*	85 (40 %)
mc-n.º 226	Procedimiento general D	cromatografía de sílice	290 (40 %)
me-n.º 118	Procedimiento general D	Procedimiento J*	16,2 (42 %)
mc-n.º 131	Procedimiento general D	Procedimiento J*	16,3 (51 %)
mb-n.º 118	Procedimiento general D	Procedimiento J*	7,9 (23 %)
mcValCitPABC-n.º 134	Procedimiento general E	Procedimiento J*	17 (33 %)
mc-n.º 145	Procedimiento general D	Procedimiento K	6 (20 %)
MalPeg6C2-n.º 126	Procedimiento general D	Procedimiento J*	16,4 (26 %)
mc-n.º 126	Procedimiento general D	Procedimiento K*	16,3 (32 %)
mv-n.º 118	Procedimiento general D	Procedimiento J*	11,7 (34 %)
mc-n.º 172	Procedimiento general D	Procedimiento J*	10 (56 %)
MalPeg6C2-n.º 226	Procedimiento general D	Procedimiento K*	15 (10 %)
MalPeg6C2-n.º 145	Procedimiento general D	Procedimiento K	1,8 (3,7 %)
mc-n.º 162	Procedimiento general D	Procedimiento H* sin modificador	1,2 (3,1 %)
mc-n.º 163	Procedimiento general D	Procedimiento K*	9,9 (26 %)
mcValCitPABC-n.º 231	Procedimiento general E	Procedimiento J*	0,2 (4 %)
MalPeg6C2-n.º 238	Procedimiento general D	cromatografía de sílice	240 (77 %)
MalPeg6C2-n.º 239	Procedimiento general D	cromatografía C18 de media presión	104 (39 %)
mc-n.º 123	Procedimiento general D	cromatografía de sílice	345 (cuant.)

ES 2 657 014 T3

(continuación)

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
MalC6-n.º 54	Procedimiento general S	Procedimiento J*	16,3 (30 %)
mc-n.º 231	Procedimiento general D	Procedimiento J*	10 (60 %)
MalC6-n.º 118	Procedimiento general S	Procedimiento J*	5,3 (10 %)
mcValCitPABC-n.º 123	Procedimiento general E	cromatografía de sílice	179 (60 %)
mc-n.º 237	Procedimiento general D	Procedimiento J*	12,6 (47 %)
mc-n.º 158	Procedimiento general D	Procedimiento J*	7,1 (28 %)
MalC6Am-n.º 151	Procedimiento general D	Procedimiento J*	18,4 (86 %)
PFPCOPeg2C2 ValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general X3	Procedimiento J* AcOH como modificador	70 (68 %)
mcValCitPABC-n.º 154	Procedimiento general E	cromatografía C18 de media presión	10 (19 %)
MalC6Am-n.º 153	Procedimiento general D	Procedimiento K*	18,7 (47 %)
PFPCOPeg2C2AmPeg2C2-n.º 69	Procedimiento general X4	Procedimiento R*	40 (64 %)
mcValCitPABC-n.º 246	Procedimiento general E	cromatografía C18 de media presión	21 (45 %)
PFPCOPeg2C2AmPeg2C2-n.º 69	Procedimiento general X4	Procedimiento R*	40 (64 %)
mc ValCitP ABC-n.º 246	Procedimiento general E	cromatografía C18 de media presión	21 (45 %)
PFPCOPeg2C2AlaAlaAsnPABC-n.º 54	Procedimiento general X1	Procedimiento R*	16,8 (54 %)
PFPCOPeg2C2-n.º 54	Procedimiento general V	Procedimiento R*	4,1 (56 %)
PFPCOPeg2C2AmPeg2C2PABC-n.º 54	Procedimiento general W	Procedimiento R*	1,1 (39 %)
AmPeg6C2-n.º 115	Procedimiento general	Procedimiento J*	100 (48 %)
PFPCOPeg5C2-n.º 115	Procedimiento general V	Procedimiento J*	29 (26 %)
mcGly-n.º 201	-	cromatografía de sílice	25 (16,2 %)
AzCOC2Ph4AmCOPeg2C2-n.º 54	Procedimiento general	Procedimiento R*	3,5 (52 %)

(continuación)

Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento de preparación	Procedimiento de purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
AzCOC2Ph4AmPeg1C1ValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general U	Procedimiento R*	93 (43 %)
AzCOC2Ph4AmPeg1C1ValCitPABC-n.º 30	Procedimiento general U	Procedimiento R*	1,7 (42 %)
AzCOC2Ph4AmCOPeg2C2-n.º 69	Procedimiento general	Procedimiento R*	88 (62 %)
AzCOC2Ph4AmCOPeg2C2-n.º 115	Procedimiento general	Procedimiento R*	75 (82 %)
AcLysValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general	Procedimiento J*	86 (40 %)

Tabla 18B - Compuesto seleccionados (péptidos citotóxicos con engarces) de la invención y Ejemplos de Referencia

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitPABC-n.º 34	HPLC (Protocolo M): 1380,6 [M+Na ⁺], (12,899 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-1-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il] fenil]-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida
MalPeg3C2-n.º 41	CL-EM: 1031,7 [M+H ⁺], 1054,8 [M+Na ⁺] (0,88 minutos); HPLC (Protocolo D): 10,559 minutos	N-[3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi]etoxi)propanoil]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-fenilet]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 42	CL-EM: 1178,2 [M+H ⁺], 1197,4 [M+Na ⁺] (3,50 minutos); HPLC (Protocolo Q): 25,235 minutos	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 44	CL-EM: 913,7 [M+H ⁺] (0,85 minutos); HRMS: Calc.: 913,5103 [M+H ⁺], Obs.: 913,5103.	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-fenilet]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
MalPeg3C2-n.º 44	[M+H ⁺] (0,82 minutos); CL-EM: 1003,8 minutos; HPLC (Protocolo A): 1003,5 [M+H ⁺], 1026,4 [M+Na ⁺] (9,095 minutos)	N-[3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi}etoxi)propanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil] amino)-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 44	CL-EM: 1135,8 [M+H ⁺] (0,83 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalValCitP ABC-n.º 44	CL-EM: 1318,9 [M+H ⁺](0,89 minutos); HPLC (Protocolo A): 1319,6 [M+H ⁺], 1342,6 [M+Na ⁺] (9,132 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil] amino)-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il] fenil]-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 45	CL-EM: 927,7 [M+H ⁺](0,92 minutos); HRMS: Calc.: 927,5260 [M+H ⁺], Obs.: 927,5259.	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg3C2-n.º 45	CL-EM: 1017,8 [M+H ⁺] (0,90 minutos);	N-[3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1 H -pirrol-1-il)etoxi]etoxi}etoxi)propanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 45	CL-EM: 1149,9 [M+H ⁺] (0,90 minutos); HPLC (Protocolo A a 45 °C): 1150,5 [M+H ⁺], 1171,5 [M+Na ⁺] (9,788 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 45	CL-EM: 1332,8 [M+H ⁺] (1,86 minutos); HPLC (Protocolo A a 45 °C): 1333,6 [M+H ⁺] (9,737 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il] fenil]-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitPABC-n.º 54	HPLC (Protocolo A a 45 °C): 1342,6 [M+H] (9,114 minutos).	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 69	CL-EM: 897,7 [M+H ⁺], 919,7 (0,81 minutos); HPLC (Protocolo A a 45 °C): 897,5 [M+H ⁺](9,058 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 69	HPLC (Protocolo A a 45 °C): 1120,6 [M+H ⁺], 1142,5 (9,076 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc ValCitP ABC-n.º 69	HPLC (Protocolo M): 1326,6 [M+Na ⁺] (11,962 minutos)	N-[3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi]etoxi)propanoil]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 70	HPLC (Protocolo A a 45 °C): 1317,6 [M+H ⁺](9,282 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABC-n.º 75	CL-EM: 1273,9 [M+H ⁺](0,82 minutos); HPLC (Protocolo A a 45 °C): 1273,6 [M+H ⁺], (8,814 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N ⁵ -carbamoil-N-{4-[(3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(2-feniletil]amino]propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil)oxetan-3-il]carbamoil]oxi metil]fenil]-L-ornitinamida
mc-n.º 79	HPLC (Protocolo A a 45 °C): 941,5 [M+H ⁺], 963,4 [M+Na ⁺] (10,444 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitP ABC-n.º 79	HPLC (Protocolo A): 1346,6 [M+H ⁺], (9,807 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-4,5,5,10-tetrametil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil}-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABC-n.º 92	CL-EM: 1282,6 [M+H ⁺](0,79 minutos); HPLC (Protocolo A a 45 °C): 1282,6 [M+H ⁺](7,953 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(quinolin-6-ilamino)propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil}-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABC-n.º 112	HPLC (Protocolo M): 1288,6 [M+H ⁺], 1310,6 [M+Na ⁺] (11,757 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl] amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil}-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida
mv-n.º 115	HPLC (Protocolo A a 45 °C): m/z 897,5 [M+H ⁺], (9,149 minutos)	N-[5-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)pentanoil]-N,2-dimetilalanil-N-{(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 115	HPLC (Protocolo A a 45 °C); m/z 911,5 [M+H ⁺], (9,676 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N,2-dimetilalanil-N-{(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida
mb-n.º 115	-	N-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)butanoil]-N,2-dimetilalanil-N-{(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida
me-n.º 115	-	N-[7-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)heptanoil]-N,2-dimetilalanil-N-{(1S,2R)-4-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-metoxi-1-[(1S)-1-metilpropil]-4-oxobutil}-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 115	HPLC (Protocolo M): m/z 1317,7 [M+H ⁺](12,261 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl] amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirro lidin-1-il)-2-oxoetil]-4,5,5,10-tetrametil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil}-N ⁵ -carbamoil-L-ornitinamida

ES 2 657 014 T3

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: <i>m/z</i> de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mc-n.º 51	HPLC (Protocolo M): <i>m/z</i> 934,5 [M+H ⁺] (11,94 minutos)	N~ 2~-[1-{{6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil}amino}ciclopropil]carbonil]-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-{{(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil} amino}propil} pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 47	HPLC (Protocolo M): <i>m/z</i> 962,5 [M+H ⁺] (13,014 minutos)	N~ 2~-[1-{{6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil}amino}ciclopentil]carbonil]-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-{{(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil} amino}propil} pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 54	HPLC (Protocolo M): <i>m/z</i> 936,5 [M+H ⁺](9,22 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-{{(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil}amino}propil}pirroli din-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 47	HPLC (Protocolo M): <i>m/z</i> 1368,6 [M+H ⁺](13,157 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-[4-{{{1-{{(2S)-1-{{(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-{{(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil}amino}propil}pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il} (metil)amino}-3-metil-1-oxobutan-2-il}carbamoil} ciclopentil}carbamoil]oxi}metil}fenil]-L-ornitinamida
mcValCitP ABC-n.º 26	HPLC (Protocolo M): <i>m/z</i> 1386,6 [M+H ⁺](16,21 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[4-{{(5S,8S,11S,12R)-11-{{(2S)-butan-2-il}-12-{{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{{(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil}amino}-3-tioxopropil} pirrolidin-1-il)-2-oxoetil}-4,10-dimetil-3,6,9-trioxo-5,8-di(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il}fenil]-N~5~- carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 26	HPLC (Protocolo A*): <i>m/z</i> 980,5 [M+H ⁺](10,628 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-{{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-{{(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil}amino}-3-tioxopropil}pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 42	HPLC (Protocolo A*): <i>m/z</i> 1361,7 [M+H ⁺](9,831 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[4-{{(5S,8S,11S,12R)-11-{{(2S)-butan-2-il}-12-{{(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-{{(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il}amino}-2-metil-tioxopropil} pirrolidin-1-il)-2-oxoetil}-4,10-dimetil-3,6,9-trioxo-5,8-di(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il}fenil]-N~5~- carbamoil-L-ornitinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitPABC-n.º 36	HPLC (Protocolo A*): m/z 1324,6 [M+Na ²³] (9,987 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(5S,8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-{2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-fenil)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil}-4,10-dimetil-3,6,9-trioxo-5,8-di(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil}-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 42	HPLC (Protocolo A*): m/z 955,5 [M+H ⁺](10,679 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N -metil-L-valinamida
AmPeg6C2-n.º 54	CL-EM (Protocolo H): m/z 1078,7 [M+H ⁺](2,56 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg3C2-n.º 54	CL-EM (Protocolo H): m/z 1026,6 [M+H ⁺](3,54 minutos)	N-[3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1 H -pirrol-1-il)etoxi]etoxi} etoxi)propanoíl]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 54	CL-EM (Protocolo H): m/z 1677,9 [M+H ⁺](3,48 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(30S,33S,34R)-33-[(2S)-butan-2-il]-34-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino] propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-27,27,32-trimetil-3,25,28,31-tetraoxo-30-(propan-2-il)-2,7,10,13,16,19,22,35-octaoxa-4,26,29,32-tetraazahexatriacont-1-il] fenil}-N~ 5~- carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 54	CL-EM (Protocolo H): m/z 1545,8 [M+H ⁺](3,48 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(21S,24S,25R)-24-[(2S)-butan-2-il]-25-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino] propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-18,18,23-trimetil-3,16,19,22-tetraoxo-21-(propan-2-il)-2,7,10,13,26-pentaoxa-4,17,20,23-tetraazaheptacos-1-il]fenil}-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
MalPeg3C2-n.º 47	CL-EM (Protocolo QI): m/z 1052,7 [M+H ⁺](0,88 minutos)	N~ 2~-[1-[(3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi)etoxi]propanoíl]amino] ciclo-pentil] carbonil]-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
AmPeg6C2-n.º 47	CL-EM (Protocolo H): m/z 1104,88 [M+H ⁺](2,65 minutos)	1-amino-N-(1-((2S)-1-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil)amino)propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil)ciclopentil)-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-amida
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 47	CL-EM (Protocolo H): m/z 1571,8 [M+H ⁺](3,56 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-(4-[16-((2S)-1-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil)amino)propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil)ciclopentil]amino]-3,16-dioxo-2,7,10,13-tetraoxa-4-azaheptadec-1-il)fenil)-L-ornitinamida
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 47	HPLC (Protocolo H): m/z 1703,8 [M+H ⁺](3,57 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-(4-[25-((2S)-1-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil)amino)propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il)(metil amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil)ciclopentil]amino]-3,25-dioxo-2,7,10,13,16,19,22-heptaoxa-4-azapentacos-1-il)fenil)-L-ornitinamida
MalPeg3C2-n.º 42	CL-EM (Protocolo H): m/z 1045,7 [M+H ⁺](3,92 minutos)	N-[3-(2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi)etoxi]propanoil)-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-3-((2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il) amino)-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AmPeg6C2-n.º 42	CL-EM (Protocolo H): m/z 1097,7 [M+H ⁺](2,80 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-3-((2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 42	CL-EM (Protocolo H): m/z 1696,8 [M+H ⁺](3,73 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(27S,30S,33S,34R)-33-((2S)-butan-2-il)-34-(2-((2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-3-((2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-26,32-dimetil-3,25,28,31-tetraoxo-27,30-di(propan-2-il)-2,7,10,13,16,19,22,35-octaoxa-4,26,29,32-tetraazahexatriacont-1-il]fenil}-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 42	CL-EM (Protocolo H): m/z 1564,8 [M+H ⁺](3,70 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(18S,21S,24S,25R)-24-((2S)-butan-2-il)-25-(2-((2S)-2-((1R,2R)-1-metoxi-3-((2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)amino)-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-17,23-dimetil-3,16,19,22-tetraoxo-18,21-di(propan-2-il)-2,7,10,13,26-pentaoxa-4,17,20,23-tetraazaheptacos-1-il]fenil}-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
MalPeg3C2-n.º 26	CL-EM (Protocolo H): m/z 1070,6 [M+H ⁺](3,94 minutos)	N-[3-(2-(2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi)etoxi)propanoíl] -N-metil-L-valil-N-K3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il) etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 41	HPLC (Protocolo A): m/z 941,5 [M+H ⁺](9,883 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoíl]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3- metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AmPeg6C2-n.º 26	CL-EM (Protocolo H): m/z 1122,6 [M+H ⁺](2,76 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 26	CL-EM (Protocolo H): m/z 1588,0 [M+H ⁺](3,74 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoíl]-L-valil-N-{4-[(18S,21S,24S,25R)-24-[(2S)-butan-2-il]-25-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-17,23-dimetil-3,16,19,22-tetraoxo-18,21-di(propan-2-il)-2,7,10,13,26-pentaoxa-4,17,20,23-tetrazaheptacos-1-il]fenil]-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
MalPeg3C2V alCitP ABC-n.º 26	CL-EM (Protocolo H): m/z 1476,8 [M+H ⁺](3,81 minutos)	N-[3-(2-(2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi)etoxi)propanoíl]-L-valil-N-{4-[(5S,8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-4,10-dimetil-3,6,9-trioxo-5,8-di(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 26	CL-EM (Protocolo H): m/z 1721,9 [M+H ⁺](3,75 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoíl]-L-valil-N-{4-[(27S,30S,33S,34R)-33-[(2S)-butan-2-il]-34-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-26,32-dimetil-3,25,28,31-tetraoxo-27,30-di(propan-2-il)-2,7,10,13,16,19,22,35-octaoxa-4,26,29,32-tetraazahexatriacont-1-il] fenil]-N~ 5~- carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 36	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 897,7 [M+H ⁺](1,00 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoíl]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletíl]amino)-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
MalPeg6C2-n.º 54	CL-EM (Protocolo H): m/z 1158,7 [M+H ⁺](3,55 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaohexahenicosan-21-il]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg3C2V alCitP ABC-n.º 47	CL-EM (Protocolo: m/z 1458,7 H): [M+H ⁺](3,56 minutos)	N-[3-(2-[2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi]etoxi)propanoil]-L-valil-N~ 5~ - carbamoil-N-[4-(((1-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino }propil] pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il] carbamoil} ciclopentil)carbamoil]oxi) metil]fenil] -L-ornitinamida
MalPeg3C2-n.º 36	CL-EM (Protocolo H): m/z 987,7 [M+H ⁺](3,97 minutos)	N-[3-(2-[2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi]etoxi)propanoil]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletil)amino]-3-tioxopropil] pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 47	CL-EM (Protocolo H): m/z 1184,7 [M+H ⁺](3,67 minutos)	1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-N-(1-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil] amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil] ciclopentil)-3,6,9,12,15,18-hexaohexahenicosan-21-amida
MalPeg6C2-n.º 26	CL-EM (Protocolo H): m/z 1202,7 [M+H ⁺](3,93 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaohexahenicosan-21-il]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 36	CL-EM (Protocolo H): m/z 1118,8 [M-H] (3,96 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaohexahenicosan-21-il]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletil)amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	CL-EM (Protocolo H): m/z 1506,8 [M+H ⁺](3,76 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[4-[(18S,21S,24S,25R)-24-[(2S)-butan-2-il]-25-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletil)amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil]-17,23-dimetil-3,16,19,22-tetraoxo-18,21-di (propan-2-il)-2,7,10,13,26-pentaoxa-4,17,20,23-tetraazaheptacos-1-il]fenil]-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
AmPeg6C2-n.º 36	CL-EM (Protocolo H): m/z 1039,7 [M+H ⁺](2,68 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaohexahenicosan-1-ol)-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletil) amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitP ABC-n.º 60	HPLC (Protocolo M): m/z 1307,6 [M+H ⁺] (12,696 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrol idin-1-il)-2-oxoetil]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxa-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 36	CL-EM (Protocolo H): m/z 1638,0 [M+H ⁺](3,77 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(27S,30S,33S,34R)-33-[(2S)-butan-2-il]-34-2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(2-feniletíl)amino]-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-26,32-dimetil-3,25,28,31-tetraoxo-27,30-di (propan-2-il)-2,7,10,13,16,19,22,35-octaoxa-4,26,29,32-tetraazahexatriacont-1-il]fenil]-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 41	CL-EM (Protocolo H): m/z 1550,9 [M+H ⁺](3,53 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(18S,21S,24S,25R)-24-[(2S)-butan-2-il]-25-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1 S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxoprop il] pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-17,23-dimetil-3,16,19,22-tetraoxo-18,21-di(propan-2-il)-2,7,10,13,26-pentaoxa-4,17,20,23-tetrazaheptacos-1-il]fenil]-N~ 5~ - carbamoil-L-ornitinamida
MalPeg6C2-n.º 60	CL-EM (Protocolo H): m/z 1101,8 [M+H ⁺](3,66 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-N-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AmPeg6C2-n.º 60	CL-EM (Protocolo H): m/z 1021,7 [M+H ⁺] (2,57 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg3C2-n.º 60	CL-EM (Protocolo H): m/z 969,7 [M+H ⁺] (3,65 minutos)	N-[3-(2-[2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi]etoxi)propanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1-fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 41	CL-EM (Protocolo H): m/z 1163,0 [M-H] (3,70 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-N-metil-L-valil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
AmPeg6C2-n.º 66	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1009,8 [M+H ⁺] (0,72 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 60	CL-EM (Protocolo H): m/z 1621,0 [M+H ⁺] (3,55 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(30S,33S,34R)-33-[(2S)-butan-2-il]-34-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[1-(fenilciclopropil)metil]amino]propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-27,27,32-trimetil-3,25,28,31-tetraoxo-30-(propan-2-il)-2,7,10,13,16,19,22,35-octaoxa-4,26,29,32-tetraazahexatriacont-1-il]fenil]-N~5~- carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 70	HPLC (Protocolo M): m/z 911,5 [M+H ⁺] (11,847 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[[2-(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
2AcAmPeg6C2-n.º 66	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1129,8 [M+H ⁺] (0,85 minutos)	N-(24-bromo-23-oxo-4,7,10,13,16,19-hexaoxa-22-azatetracosan-1-ol)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 66	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 867,7 [M+H ⁺] (0,90 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2A6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc ValCitP ABC-n.º 88	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1355,9 [M+H ⁺] (0,87 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[1(S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-4,5,5,10-tetrametil-3,6,9-trioxa-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 88	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1314,9 [M+H ⁺] (0,91 minutos)	N-{6-[(bromoacetil)amino]hexanoil}-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2A6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxa-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~5~- carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 92	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 876,7 [M+H ⁺] (0,75 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-(quinolin-6-ilamino)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitPABC-n.º 44	HPLC (Protocolo A): m/z 1318,6 [M+H ⁺] (9,174 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl] amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxo-4,7,10-triazatetradec-1-il] fenil]-N~ 5~-carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 108	HPLC (Protocolo A): m/z 909,5 [M+H ⁺] (9,063 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(R)-(7S)-biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il(carboxi)metil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 108	HPLC (Protocolo M): m/z 1315,7 [M+H ⁺] (11,89 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(R)-(7S)-biciclo[4,2,0]octa-1,3,5-trien-7-il(carboxi)metil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-11-[(2S)-butan-2-il]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxo-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N-5~-carbamoil-L-ornitinamida
NHSCOPEg2C2ValCitPABC-n.º 66	HPLC (Protocolo M): m/z 683,3 [M+H ⁺] (10,03 minutos)	N-[3-(2-{3-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-3-oxopropoxi}etoxi)propanoíl)-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxo-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~ 5~-carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABC-n.º 98	HPLC (Protocolo M): m/z 1368,6 [M+H ⁺] (12,504 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~ 5~-carbamoil-N-{4-[[[(2S)-2-[[[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpirrolidin-1-il]carbonil]oxi]metil] fenil]-L-ornitinamida
mcValCitP ABC-n.º 95	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1356,5 [M+H ⁺] (1,79 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(9S,12S,13R)-12-[(2S)-butan-2-il]-13-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-6,6,11-trimetil-3,7,10-trioxo-9-(propan-2-il)-2,14-dioxo-4,8,11-triazapentadec-1-il] fenil]-N~ 5~-carbamoil-L-ornitinamida
MalPeg3C2-n.º 69	HPLC (Protocolo M): m/z 987,5 [M+H ⁺] (10,702 minutos)	N-[3-(2-{2-[2-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)etoxi]etoxi}etoxi)propanoíl)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(1S)-1-carboxi-2-feniletíl] amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
AmPeg6C2-n.º 69	CL-EM (Protocolo H): m/z 1040,1 [M+H ⁺] (2,12 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 84	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1371,4 [M+H ⁺] (1,89 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]-3-tio xopropil] pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-4,5,5,10-tetrametil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~ 5~carbamoil-L-ornitinamida
AmCapValCitPABC-n.º 54	CL-EM (Protocolo H): m/z 1262,3 [M+H ⁺] (2,35 minutos)	N-(6-aminohexanoil)-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~ 5~carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABC-n.º 226	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1330,9 [M+H ⁺] (1,77 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxo propil] pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-4,5,5,10-tetrametil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~ 5~carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABC-n.º 117	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1342,6 [M+H ⁺] (1,80 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~ 5~ -{4-[[[(2S)-2-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il] amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il] (metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpirrolidin-1-il]carbonil]oxi)metil]fenil]-L-ornitinamida
MalPeg6C2-n.º 98	HPLC (Protocolo M): m/z 1185,6 [M+H ⁺] (11,985 minutos)	1-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 118	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1328,6 [M+H ⁺] (1,68 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~ 5~ -carbamoil-N-{4-[[[(2S)-2-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil] pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il] (metil)amino]-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpirrolidin-1-il]carbonil]oxi)metil]fenil]-L-ornitinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitPABC-n.º 80	HPLC (Protocolo M): m/z 1353,6 [M+Na ⁺] (12,751 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1(S)-1-carboxi-2-feniletíl] amino]-1-metoxi-2-metil-3-tioxopropil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-4,5,5,10-tetrametil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il] fenil}-N~ 5~-carbamoil-L-ornitinamida
MalPeg6C2-n.º 118	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1145,6 [M+H ⁺] (1,66 minutos)	1-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1(S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 230	HPLC (Protocolo M): m/z 1146,6 [M+H ⁺] (12,071 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[R)-carboxi(1-fenilciclopropil)metil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 232	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1367,3 [M+H ⁺] (1,81 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N~ 5~-carbamoil-N-{4-[[[(2R)-2-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[1(S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil]-2-metilpirrolidin-1-il]carbonil]oxi)metil]fenil]-L-ornitinamida
mc-n.º 117	CL-EM (Protocolo Q): m/z 937,4 [M+H ⁺] (1,91 minutos)	1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[[2(S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 117	HPLC (Protocolo M): m/z 1161,6 [M+H ⁺] (12,115 minutos)	1-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[[2(S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mv-n.º 69	CL-EM (Protocolo Q): m/z 883,3 [M+H ⁺] (1,57 minutos)	N-[5-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)pentanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1(S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mb-n.º 69	HPLC (Protocolo M): m/z 869,5 [M+H ⁺] (10,874 minutos)	N-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)butanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[1(S)-1-carboxi-2-feniletíl]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
AmPeg6C2-n.º 234	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1514,3 [M+H ⁺] (0,76 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(3R,4R,7S,12S)-7-bencil-14-[3-cloro-4-(propan-2-iloxi)fenil]-4-metil-12-[4-(8-metilimidazo[1,2-a]piridin-2-il)bencil]-5,8,14-trioxo-2,9-dioxo-6,13-diazatetradecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AmPeg6C2-n.º 235	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1280,2 [M+H ⁺] (0,87 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-ol)-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-[[4-(5-fluoro-1,3-benzotiazol-2-il)-2-metilfenil]amino]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 118	CL-EM (Protocolo Q): m/z 923,3 [M+H ⁺] (1,73 minutos)	1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 123	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1175,3 [M+H ⁺] (0,99 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-terc-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 226	CL-EM (Protocolo Q): m/z 925,7 [M+H ⁺] (1,85 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[[[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
me-n.º 118	CL-EM (Protocolo Q): m/z 937,7 [M+H ⁺] (1,80 minutos)	1-[7-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)heptanoil]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 131	CL-EM (Protocolo Q): m/z 937,3 [M+H ⁺] (1,88 minutos)	1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[[[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mb-n.º 118	CL-EM (Protocolo Q): m/z 895,3 [M+H ⁺] (1,63 minutos)	1-[4-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)butanoil]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mcValCitPABC-n.º 134	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1314,3 [M+H ⁺] (1,67 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-5-carbamoyl-N-{4-[[[(2S)-2-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoyl]-2-metilpirrolidin-1-il]carbonil]oxi) metil]fenil]-L-ornitinamida
mc-n.º 145	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 897,34 [M+H ⁺] (0,90 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N, 2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 126	HPLC (Protocolo M): m/z 1169,6 [M+Na ⁺] (12,583 minutos)	N-[(2R,3R)-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-24,24-dimetil-21,25-dioxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxa-22-azapentacosan-25-il]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo
mc-n.º 126	HPLC (Protocolo M): m/z 925,5 [M+H ⁺] (12,994 minutos)	N-[(2R,3R)-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-(3-[[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil] amino)-2,2-dimetilpropanoil]-L-valil](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo
mv-n.º 118	CL-EM (Protocolo Q): m/z 909,2 [M+H ⁺] (1,68 minutos)	1-[5-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)pentanoil]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 172	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 941,3 [M+H ⁺] (0,96 minutos)	N-[(2R,3R)-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-[(3S)-1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-3-fluoropirrolidin-3-il]carbonil]-L-valil](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo
MalPeg6C2-n.º 226	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1147,3 [M+H ⁺] (1,76 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaohenicosan-21-il]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(2S)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 145	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1141,3 [M+Na ⁺] (0,87 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaohenicosan-21-il]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S,2R)-1-hidroxi-1-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
mc-n.º 162	CL-EM (Protocolo Q): m/z 937,3 [M+H ⁺] (1,50 minutos)	N-[(2R,3R)-3-((2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-((2S)-1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilpiperidin-2-il)carbonil]-L-valil](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalanina
mc-n.º 163	HPLC (Protocolo A): m/z 937,5 [M+H ⁺] (7,855 minutos)	N-[(2R,3R)-3-((2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-((2R)-1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilpiperidin-2-il)carbonil]-L-valil](metil)amino)-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalanina
mcValCitPABC-n.º 231	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1640,4 [M+Na ²³] (0,94 minutos)	(N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-[4-[(8S,11S,12R)-12-(2-((2S)-2-[(3R,4R,7S)-7-bencil-15-{2-[(3,5-dimetil-1H-pirrol-2-il-kappaN)metilideno]-2H-pirrol-5-il-kappaN)-4-metil-5,8,13-trioxo-2-oxa-6,9,12-triazapentadecan-3-il]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil)-11-((2S)-butan-2-il)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N-5--carbamoil-L-ornitina)amido)(difluoro)boro
MalPeg6C2-n.º 238	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1173,3 [M+H ⁺] (0,96 minutos)	N-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(2S)-1-oxo-3-fenilo-1-(prop-2-en-1-iloxi)propan-2-il]amino]propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalPeg6C2-n.º 239	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1201,3 [M+H ⁺] (2,02 minutos)	1-[1-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)-21-oxo-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-il]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-terc-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 123	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 953,3 [M+H ⁺] (1,04 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-terc-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
MalC6-n.º 54	CL-EM (Protocolo Q): m/z 922,3 [M+H ⁺] (1,50 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 231	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1213,3 [M+H ⁺] (0,98 minutos)	{N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(3R,4R,7S)-7-bencil-15-{2-[(3,5-dimetil-1H-pirrol-2-il-kappaN)metilideno]-2H-pirrol-5-il-kappaN)-4-metil-5,8,13-trioxo-2-oxa-6,9,12-triazapentadecan-3-il]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamido)(difluoro)boro

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
MalC6-n.º 118	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 909,3 [M+H ⁺] (0,76 minutos)	1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexil]-2-metil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 123	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1358,3 [M+H ⁺] (0,97 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-terc-butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida
mc-n.º 237	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 964,4 [M+H ⁺] (0,96 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-N, 2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-3-(1H-indol-3-il)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il] amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mc-n.º 158	HPLC (Protocolo M): m/z 951,4 [M+H ⁺] (12,839 minutos)	N-[(2R,3R)-3-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[[N-[(2S)-1-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-2-metilpiperidin-2-il]carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo
MalC6Am-n.º 151	CL-EM (Protocolo Q): m/z 922,3 [M+H ⁺] (1,43 minutos)	1,2-dimetil-L-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-[[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexil]amino]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
PFPCOPeg2C2ValCitPABC-n.º 54	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1502,8 [M+H ⁺] (1,98 minutos)	N-(3-{2-[3-oxo-3-(pentafluorofenoxi)propoxi]etoxi}propanoil)-L-valil-N-{4-[(8S,11S,12R)-11-(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida
mcValCitPABC-n.º 154	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 1370,2 [M+H ⁺] (0,93 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-{4-[(9S,12S,13R)-12-(2S)-butan-2-il]-13-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[[[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-2-oxoetil)-4,6,6,11-tetrametil-3,7,10-trioxo-9-(propan-2-il)-2,14-dioxa-4,8,11-triazapentadec-1-il]fenil]-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida
MalC6Am-n.º 153	HPLC (Protocolo A): m/z 922,5 [M+H ⁺] (7,352 minutos)	1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-3-[[[(2S)-1-[[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexil]amino]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
PFPCOPeg2C2AmPeg2C2-n.º 69	HPLC (Protocolo BB): m/z 1217,6 [M+H ⁺] (12,936 minutos)	N-[11,20-dioxo-20-(pentafluorofenoxi)-4,7,14,17-tetraoxa-10-azaicosan-1-oi]l-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil] pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcValCitPABC-n.º 246	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1327,9 [M+H ⁺] (1,36 minutos)	N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-(4-[(6S,9R,10R)-6-bencil-10-[(2S)-1-[(3R,4S,5S)-4-[(1,2-dimetil-L-prolil-L-valil)(metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-9-metil-3,8-dioxo-2,11-dioxa-4,7-diazadodec-1-il]fenil)-N~5~carbamoil-L-ornitinamida
PFPCOPeg2C2AlaAlaAsnPAB C-n.º 54	HPLC (Protocolo AB): m/z 1503,6 [M+H ⁺] (8,06 minutos)	N-(3-{2-[3-oxo-3-(pentafluorofenoxi)propoxi]etoxi}propanoil)-L-alanil-L-alanil-N~1~{4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il)-2-oxoetil]-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil)-L-aspartamida
PFPCOPeg2C2-n.º 54	HPLC (Protocolo AB): m/z 1098,4 [M+H ⁺] (8,44 minutos)	2-metil-N-(3-{2-[3-oxo-3-(pentafluorofenoxi)propoxi]etoxi}propanoil)alanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
PFPCOPeg2C2AmPeg2C2PABC-n.º 54	HPLC (Protocolo AB): m/z 1428,2 [M+Na ⁺] (10,32 minutos)	N-[[4-[[11,20-dioxo-20-(pentafluorofenoxi)-4,7,14,17-tetraoxa-10-azaicosan-1-oi]amino]bencil]oxi]carbonil]-2-metilalanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-[(2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AmPeg6C2-n.º 115	HPLC (Protocolo A): m/z 1053,5 [M+H ⁺] (7,35 minutos)	N-(21-amino-4,7,10,13,16,19-hexaoxahenicosan-1-oi)-N,2-dimetilalanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
PFPCOPeg5C2-n.º 115	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1205,1 [M+H ⁺] (1,99 minutos)	N,2-dimetil-N-[19-oxo-19-(pentafluorofenoxi)-4,7,10,13,16-pentaoxanonadecan-1-oi]alanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(1S)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
mcGly-n.º 201	HPLC (Protocolo EB): (4,0 minutos): IEN-EM m/z 1023,59 [M+H ⁺]	1,2-dimetil-D-prolil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2S)-3-[4-[(N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]glicil]amino)fenil]-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida

(continuación)

Engarce con carga útil n.º	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: IEN-EM	Nombre IUPAC
AzCOC2Ph4AmCOPeg2C2-n.º 54	HPLC (Protocolo FB): m/z 1132,4 [M+H ⁺] (10,18 minutos)	2-metil-N-(3-{2-[3-oxo-3-({4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]fenil}amino)propoxi]etoxi}propanoil)alanil-N-[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidín-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AzCOC2Ph4AmPeg1C1ValCitPABC-n.º 54	HPLC (Protocolo FB): m/z 1465,8 [M+H ⁺] (10,97 minutos)	N-[[2-oxo-2-({4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]fenil}amino)etoxi]acetil]-L-valil-N-4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidín-1-il)-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~5~ - carbamoil-L-ornitinamida
AzCOC2Ph4AmPeg1C1ValCitPABC-n.º 30	HPLC (Protocolo FB): m/z 1491,8 [M+H ⁺] (10,56 minutos)	N-[[2-oxo-2-({4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]fenil}amino)etoxi]acetil]-L-valil-N~5~-carbamoil-N-4-(((1-((2S)-1-((3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidín-1-il)-5-metil-1-oxoheptan-4-il](metil)amino)-3-metil-1-oxobutan-2-il]carbamoil)ciclopentil) carbamoil]oxi) metil]fenil]-L-ornitinamida
AzCOC2Ph4AmCOPeg2C2-n.º 69	HPLC (Protocolo AB): m/z 1065,3 [M+H ⁺] (12,02 minutos)	2-metil-N-(3-{2-[3-oxo-3-({4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]fenil}amino)propoxi]etoxi}propanoil)alanil-N-[(3R,4S,SS)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-((1S)-1-carboacil-2-feniletal]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidín-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AzCOC2Ph4AmCOPeg2C2-n.º 115	HPLC (Protocolo AA): m/z 1078,6 [M+H ⁺] (12,02 minutos)	N,2-dimetil-N-(3-{2-[3-oxo-3-({4-[3-oxo-3-(2-oxoazetidín-1-il)propil]fenil} amino)propoxi]etoxi} propanoil)alanil-N-[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-((1S)-1-carboacil-2-feniletal]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidín-1-il)-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]-N-metil-L-valinamida
AcLysValCitPABC-n.º 54	CL-EM (Protocolo Q): m/z 1319,3 [M+H ²⁺] (1,34 minutos)	N~2~-acetil-L-lisil-L-valil-N-4-[(8S,11S,12R)-11-[(2S)-butan-2-il]-12-(2-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((1S)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino)propil]pirrolidín-1-il)-2-oxoetil)-5,5,10-trimetil-3,6,9-trioxo-8-(propan-2-il)-2,13-dioxa-4,7,10-triazatetradec-1-il]fenil]-N~5~-carbamoil-L-ornitinamida, sal de ácido trifluoroacético

Tabla 19A - Conjugados seleccionados de la invención y conjugados de referencia

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 41	Procedimiento general F	2,3/7,5	1031
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 42	Procedimiento general F	2,3/7,5	1177
H-(C)_mc-n.º 44	Procedimiento general F	2,3/7,5	913
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 44	Procedimiento general F	2,2/7	1003
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 44	Procedimiento general F	2,0/7	1135
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 44 procedimiento	Procedimiento general F	2,5/7,5	1319
H-(C)_Mal-PEG3C2-n.º 45	Procedimiento general F	2,3/7,5	1017
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 45	Procedimiento general F	2,05/10	1149
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 45	Procedimiento general F	2,5/10	1342
H-(C)_mc-n.º 54	Procedimiento general F	2,2/7,5	897
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 69	Procedimiento general F	2,1/7,5	1119
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general F	2,5/7,5	1303
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 70	Procedimiento general F	2,0/7	1317
H-(C)_mc-n.º 79	Procedimiento general F	2,0/7	941
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 79	Procedimiento general F	2,3/7,5	1345
H-(C)_mc-n.º 115	Procedimiento general F	2,2/6,5	911
H-A114C-(C114)_mc-n.º 51	Procedimiento general G	NA	934,21
H-A114C-(C114)_mc-n.º 47	Procedimiento general G	NA	962,27
H-A114C-(C114)_mc-n.º 54	Procedimiento general G	NA	936,2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 47	Procedimiento general H	50/10	1367,72

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341,68
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 26	Procedimiento general H	50/10	1385,8
H-A114C-(C114)_mc-n.º 26	Procedimiento general H	50/10	980,35
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 36	Procedimiento general H	50/10	1302,69
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 42	Procedimiento general H	100/7	1360,73
H-A114C-(C114)_mc-n.º 42	Procedimiento general H	50/10	955,27
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general F	2,5/10	1342
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 54	Procedimiento general F	2,5/9	1544
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 54	Procedimiento general F	2,6/10	1677
H-(C)_mc-n.º 47	Procedimiento general F	1,9/10	962,27
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 54 procedimiento	Procedimiento general F	1,9/10	1026
H-(C)_mc-n.º 54	Procedimiento general F	2,07/10	936,2
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 47	Procedimiento general F	2,3/7,5	1569,96
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 47	Procedimiento general F	2,3/7,5	1052
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 42	Procedimiento general F	2,5/7,5	1562,87
H-(C)_mc-n.º 41	Procedimiento general F	2,5/10	941,24
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 26	Procedimiento general F	2,5/10	1589,04
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 47	Procedimiento general F	2,4/7	1701,9
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 42	Procedimiento general F	2,3/7	1044,58
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 26	Procedimiento general F	2,5/7,5	1719,9

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 42	Procedimiento general F	2,3/7,5	1696,1
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 54	Procedimiento general F	2,3/7,5	1158,5
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 47	Procedimiento general F	2,3/7,5	1184,5
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 26	Procedimiento general F	2,3/7,5	1202,6
H-(C)-MalPeg6C2-n.º 42	Procedimiento general F	2,3/7,5	1177
H-(C)_mc-n.º 36	Procedimiento general F	2,3/7,5	896
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 60	Procedimiento general F	3,0/7	1284,61
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 26	Procedimiento general F	2,5/10	1070,42
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	Procedimiento general F	3,0/10	1505,93
H-A114C-(C114)mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	Procedimiento general H	50/10	1505,93
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 54	Procedimiento general H	50/10	1158,5
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 60	Procedimiento general F	2,3/7,5	969,23
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 60	Procedimiento general F	2,3/7,5	1101,4
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 41	Procedimiento general F	2,3/7,5	1163,5
H-(C)-mc-n.º 69	Procedimiento general F	2,2/7,5	897
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 36	Procedimiento general F	2,15/10	987,31
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 36	Procedimiento general F	2,25/10	1636
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 36	Procedimiento general F	2,15/10	1119,5
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 41	Procedimiento general F	2,5/10	1549,94
H-(C)-MalPeg3C2-n.º 41	Procedimiento general F	2,3/7,5	1031

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 60	Procedimiento general F	2,5/10	1620
H-A114C-(C114)_mc-n.º 66	Procedimiento general H	50/7	866,5
H-L398C+L443C-(C398+C443)mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	50/7	1341,68
H-K392C+L443C-(C392+C443)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-L398C+V422C-(C398+C422)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	50/7	1341,68
H-(C)-mc-n.º 44	Procedimiento general F	2,3/7,5	913
H-(C)-Mal-PEG3C2-n.º 45	Procedimiento general F	2,3/7,5	1017
H-(C)_2AcAmPeg6C2-n.º 66	Procedimiento general F	2,4/10	1049,6
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 45	Procedimiento general F	2,05/10	1149
H-(C)-mc-n.º 79	Procedimiento general F	2,0/7	941
H-(C)-MalPeg3C2-n.º 44	Procedimiento general F	2,2/7	1003
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 70	Procedimiento general F	2,0/7	1317
H-(C)-MalPeg6C2-n.º 44	Procedimiento general F	2,0/7	1135
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general H	100/8,25	1302
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 79	Procedimiento general F	2,3/7,5	1345
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 79	Procedimiento general H	100/7,5	1346
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 44	Procedimiento general F	2,5/7,5	1319
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 88	Procedimiento general H	100/7,5	1355

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general F	2,5/7,5	1303
H-(C)_2AcAmCapValCitPABC-n.º 66	Procedimiento general F	2,2/10	1313,49
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 45	Procedimiento general H	100/7,5	1331,7
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 34	Procedimiento general H	100/10	1357
H-A114C-(C114) mc-n.º 45	Procedimiento general H	100/10	926
H-A114C-(C114) mc-n.º 70	Procedimiento general H	100/10	911,15
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	Procedimiento general F	2,3/7,5	1288
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 69	Procedimiento general F	2,1/7,5	1119
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1302
H-Y373C-(C373)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1302
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1302
H-N421C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1302
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1302
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 79	Procedimiento general H	100/10	1346
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 95	Procedimiento general H	100/10	1354
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 98	Procedimiento general H	100/10	1367
H-A114C-(C114)_MalPeg3C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	987,2
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 42	Procedimiento general K	NA	1080
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 54	Procedimiento general K	NA	1061
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 47	Procedimiento general K	NA	1087

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 36	Procedimiento general K	NA	1022
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 26	Procedimiento general K	NA	1105
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 66	Procedimiento general K	NA	992
H-L443C-(C443)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-Q347C-(C347)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-E388C-(C388)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-N421C-(C421)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-E380C-(C380)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-L398C+L443C-(C398+C443)MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-K392C+L443C-(C392+C443)MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-kA111C-(kC111)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-kK183C-(kC183)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-kK207C-(kC207)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general H	100/10	1119
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 108	Procedimiento general H	100/10	1314,59
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 84	Procedimiento general H	100/10	1371
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 226	Procedimiento general H	100/10	1330
H-A114C-(C114)_mc-n.º 108	Procedimiento general H	100/10	909,12
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 117	Procedimiento general H	100/10	1342
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	1316
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 98	Procedimiento general H	100/10	1184

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general F	2,2/7	1341,68
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)mc-n.º 69	Procedimiento general F	2,3/7	897,12
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general F	2,3/8	1119
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 69	Procedimiento general F	2,5/8	1302
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-0n.º 118	Procedimiento general H	100/15	1145
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-0n.º 118	Procedimiento general H	100/15	1328
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 80	Procedimiento general H	100/15	1332
H-A114C-(C114)_mc-n.º 117	Procedimiento general H	100/15	937
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 232	Procedimiento general H	100/15	1366
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 230	Procedimiento general H	100/15	1145
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 117	Procedimiento general H	100/15	1159
H-A114C-(C114)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-A114C-(C114)_mv-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	897
H-A114C-(C114)_mb-n.º 69	Procedimiento general H	100/15	869
H-A114C-(C114)_mv-n.º 69	Procedimiento general H	100/15	883
H-A114C-(C114)_mc-0n.º 118	Procedimiento general H	100/15	923
H-(C)_mc-n.º 117	Procedimiento general F	2,0/6,5	937
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 117	Procedimiento general F	2,05/6,5	1159
H-(C)_mc-0n.º 118	Procedimiento general F	2,1/7	923
H-(C)_MalPeg6C2-0n.º 118	Procedimiento general F	2,2/7,5	1145

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-0n.º 118	Procedimiento general F	2,35/7	923
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 226	Procedimiento general F	3,0/10	925
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 117	Procedimiento general F	3,0/10	937
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 117	Procedimiento general F	3,0/10	1159
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_MalPeg6C2-0n.º 118	Procedimiento general F	3,0/10	1145
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 226	Procedimiento general H	100/10	1147
H-A114C-(C114)_mc-n.º 172	Procedimiento general H	100/15	940,53
H-A114C-(C114)_mb-0n.º 118	Procedimiento general H	100/15	895
H-A114C-(C114)_me-0n.º 118	Procedimiento general H	100/15	937
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 134	Procedimiento general H	100/15	1314
H-A114C-(C114)_mc-n.º 131	Procedimiento general H	100/15	937
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 126	Procedimiento general H	100/15	1147
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 123	Procedimiento general H	100/15	1174
H-A114C-(C114)_mc-n.º 126	Procedimiento general H	100/15	925
H-A114C-(C114)_mv-0n.º 118	Procedimiento general H	100/15	909
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 226	Procedimiento general F	2,4/7	1147
H-(C) mc-n.º 226	Procedimiento general F	2,4/7	925
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 226	Procedimiento general F	3,0/10	1147
Notch-28-cG1-(C)_mc-0n.º 118	Procedimiento general F	2,5/7	923
Notch-28-cG 1-(C)_mc-n.º 115	Procedimiento general F	2,35/7	911

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
Notch-28-cG 1-(C)_MalPeg6C2-0n.º 118	Procedimiento general F	2,35/7	1145
Notch-28-cG1-(C)_me-0n.º 118	Procedimiento general F	2,4/7	937
Notch-75-cG1-(C)_mc-0n.º 118	Procedimiento general F	2,5/7	923
IL13Ra2-19F9-cG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general F	2,5/8	1341,68
IL13Ra2-19F9-cG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	Procedimiento general F	2,5/7	1288
Notch-28-cG 1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	Procedimiento general F	2,3/7	1288
Notch-28-cG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general F	2,4/7	1119
Notch-75-cG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	Procedimiento general F	2,4/7	1119
H-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	Procedimiento general I	2,35/7	941
H-(C)_18	Procedimiento general I	2,35/7	1163
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 69	Procedimiento general I	2,1/7	1137
H-(C)_m(H2O)c-n.º 69	Procedimiento general I	2,4/7	915
H-(C)_me-0n.º 118	Procedimiento general F	2,2/7	937
H-(C)_mv-0n.º 118	Procedimiento general F	2,2/7	909
H-(C)_mb-0n.º 118	Procedimiento general F	2,1/7	895
H-A114C-(C114)_MalC6-n.º 54	Procedimiento general H	100/5	922,22
H-A114C-(C114)_mc-n.º 231	Procedimiento general H	100/5	1213
H-A114C-(C114)_MalC6-0n.º 118	Procedimiento general H	100/5	909,18
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 115	Procedimiento general I	2,4/7	1151
H-A114C-(C114)_mc-n.º 158	Procedimiento general H	100/10	951

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 231	Procedimiento general H	100/10	1617
H-(C)_m(H2O)c-n.º 115	Procedimiento general I	2,4/7	929
Notch-75-cG 1-(C)_mc-n.º 115	Procedimiento general F	3,0/7,0	911,15
Notch-75-cG1-(C)_me-0n.º 118	Procedimiento general F	3,0/7,0	937
Notch-75-cG 1-(C)_MalPeg6C2-0n.º 118	Procedimiento general F	3,0/7,0	1144
H-A114C-(C114)_mc-n.º 237	Procedimiento general H	100/10	963
H-A114C-(C114)_mc-n.º 145	Procedimiento general H	100/10	897
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 145	Procedimiento general H	100/10	1119
H-A114C-(C114)_mc-n.º 162	Procedimiento general H	100/10	937
H-A114C-(C114)_MalC6Am-n.º 151	Procedimiento general H	100/10	905
Notch-28-cG1-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	Procedimiento general I	2,2/7	941
Notch-75-cG1-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	Procedimiento general I	2,2/7	941
H-(kK1 88)_COPeg2C2ValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general J	-	1318
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-0n.º 118	Procedimiento general F	2,3/7	1163
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 115	Procedimiento general F	2,3/7	1151
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 115	Procedimiento general F	2,35/7	911
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	Procedimiento general F	2,8/7	941
H-(C)_mcValCitPABC-0n.º 118	Procedimiento general F	2,2/7	1328
IL13Ra2-AB08-v1010-hG 1-(C)_m(H2O)c-n.º 115	Procedimiento general F	2,35/7	929
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 154	Procedimiento general H	100/5	1369

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropánico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-A114C-(C114)_MalC6Am-n.º 153	Procedimiento general H	100/10	921
IL13Ra2-AB08-v1010-Q347C+kK183C-hG1-(C347+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341,68
IL13Ra2-AB08-v1010-Q347C-hG1-(C347)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341,68
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(kK188)_COpeg2C2AmPeg2C2-n.º 69	Procedimiento general J	-	1032
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(kK188)_COpeg2C2ValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general J	-	1318
IL13Ra2-AB08-v1010-L443C-hG1-(C443)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341,68
IL13Ra2-AB08-v1010-K392C+L443C-hG1-(C392+C443)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341,68
IL13Ra2-AB08-v1010-L443C+kK183C-hG1-(C443+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341,68
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 98	Procedimiento general F	2,2/7	1367
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 246	Procedimiento general H	100/10	1327
H-H435A-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general F	2,2/8	1341,7
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 70	Procedimiento general F	2,2/8	1316
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general F	2,2/8	1341,7
H-E388C+N421 C-(C388+C421)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-Q347C+K392C-(C347+C392)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-L443C+kK183C-(C443+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Procedimiento Prep.	Cantidad de ácido 2,2',2"-fosfanetriiltripropanoico/Engarce-Carga útil o TCEP/PL (x/y)	Δ masa teórico o peso molecular de carga útil/engarce
H-Q347C+kK183C-(C347+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-K392C+L443C-(C392+C443)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-E388C+N421C-(C388+C421)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-Q347C+K392C-(C347+C392)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-L443C+kK183C-(C443+kC183)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-Q347C+kK183C-(C347+kC183)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-Q347C-(C347)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-kK183C-(kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-kK183C-(kC183)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-E388C-(C388)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-L443C-(C443)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-N421C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 54	Procedimiento general H	100/10	1341
H-N421C-(C421)_mc-n.º 115	Procedimiento general H	100/10	911
H-A114C-(C114)_mcGly-n.º 201	Procedimiento general G	100/10	1023

Tabla 19B - Conjugados seleccionados de la invención y conjugados de referencia

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 41	SEC (Protocolo O): 7,317 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1032	4,3

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 42	SEC (Protocolo O): 7,177 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1180	3,9
H-(C)_mc-n.º 44	SEC (Protocolo O): 7,195 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 915	4,4
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 44	SEC (Protocolo O): 7,247 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1005	3,4
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 44	SEC (Protocolo O): 7,237 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1135	3,4
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 44	SEC (Protocolo O): 7,351 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1321	4,2
H-(C)_Mal-PEG3C2-n.º 45	SEC (Protocolo O): 7,364 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1017	4,3
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 45	SEC (Protocolo O): 7,419 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1154	3,9
H-(C)_mcValCitP ABC-n.º 45	SEC (Protocolo O): 7,159 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1343	4,1
H-(C)_mc-n.º 54	SEC (Protocolo O): 7,192 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 899	4,5
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 69	SEC (Protocolo O): 7,350 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1122	3,4
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 69	SEC (Protocolo O): 7,254 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1305	4,5
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 70	SEC (Protocolo O): 7,466 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1318	3,7
H-(C)_mc-n.º 79	SEC (Protocolo O): 7,478 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 946	4
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 79	SEC (Protocolo O): 7,635 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 1349	3,7
H-(C)_mc-n.º 115	SEC (Protocolo O): 7,510 minutos; HPLC (Protocolo P): Δ masa de HC = 912	3,54
H-A114C-(C114)_mc-n.º 51	-	2,4
H-A114C-(C114)_mc-n.º 47	-	2,3
H-A114C-(C114)_mc-n.º 54	-	2,3
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 47	-	2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 54	-	1,9
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 26	-	2
H-A114C-(C114)_mc-n.º 26	-	1,9
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 36	-	2

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 42	SEC (Protocolo P): 7,681 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1378	1,95
H-A114C-(C114)mc-n.º 42	-	2
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 54	SEC (Protocolo P): 7,159 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1343	4,1
H-(C) mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 54	-	4,6
H-(C) mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 54	-	4,5
H-(C)_mc-n.º 47	-	4,2
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 54	SEC (Protocolo P): 7,179 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1028	3,7
H-(C)_mc-n.º 54	-	4
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 47	-	3,7
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 47	-	4,3
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 42	-	4,3
H-(C)_mc-n.º 41	-	3,1
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 26	-	3
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 47	-	4,2
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 42	SEC (Protocolo P): 7,142 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1050	4,3
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 26	-	4,2
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 42	-	4,1
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 54	SEC (Protocolo P): 7,254 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1161	4,4
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 47	SEC (Protocolo P): 7,303 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1182	4,4
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 26	-	4,1
H-(C)-MalPeg6C2-n.º 42	SEC (Protocolo P): 7,177 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1180	3,9
H-(C)_mc-n.º 36	-	4,2
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 60	-	3,8
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 26	-	3,8
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	-	3,5
H-A114C-(C114)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	-	1,9
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 54	-	2

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 60	-	4,2
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 60	-	4,1
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 41	-	4
H-(C)-mc-n.º 69	SEC (Protocolo P): 7,192 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 899	4,5
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 36	-	5,2
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 36	-	4,2
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 36	-	5
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 41	-	4,4
H-(C)-MalPeg3C2-n.º 41	SEC (Protocolo P): 7,317 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1032	4,3
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 60	-	4,1
H-A114C-(C114)_mc-n.º 66	-	1,8
H-L398C+L443C-(C398+C443)_mcValCitPABC-n.º 54	-	3,8
H-K392C+L443C-(C392+C443)_mcValCitPABC-n.º 54	-	3,8
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 54	SEC (Protocolo P): 8,827 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1344	2
H-L398C+V422C-(C398+C422)_mcValCitPABC-n.º 54	-	3,4
H-(C)-mc-n.º 44	SEC (Protocolo P): 7,195 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 915	4,4
H-(C)-Mal-PEG3C2-n.º 45	SEC (Protocolo P): 7,364 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1017	4,3
H-(C) 2AcAmPeg6C2-n.º 66	-	4
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 45	SEC (Protocolo P): 7,419 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1154	3,9
H-(C)-mc-n.º 79	SEC (Protocolo P): 7,478 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 946	4
H-(C)-MalPeg3C2-n.º 44	SEC (Protocolo P): 7,247 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1005	3,4
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 70	SEC (Protocolo P): 7,466 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1318	3,7
H-(C)-MalPeg6C2-n.º 44	SEC (Protocolo P): 7,237 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1135	3,4
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 69	-	2

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 79	SEC (Protocolo P): 7,635 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1349	3,7
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 79	-	1,84
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 44	SEC (Protocolo P): 7,351 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1321	4,2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 88	-	1,93
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 69	SEC (Protocolo P): 7,254 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1305	4,5
H-(C)_2AcAmCapValCitPABC-n.º 66	-	3,3
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 45	-	1,92
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 34	-	2
H-A114C-(C114)_mc-n.º 45	-	1,95
H-A114C-(C114)_mc-n.º 70	-	2
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	SEC (Protocolo P): 7,083 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1291	4,4
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 69	SEC (Protocolo P): 7,350 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1122	3,4
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 69	-	2
H-Y373C-(C373)_mcValCitPABC-n.º 69	-	1,6
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 69	-	2
H-N421C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 69	-	1,95
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 69	-	2
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 79	-	2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 95	-	2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 98	-	2
H-A114C-(C114)_MalPeg3C2-n.º 69	-	2
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 42	-	3,2
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 54	-	3,04
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 47	-	3,16
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 36	-	3,36
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 26	-	3,4
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 66	-	2,8
H-L443C-(C443)_MalPeg6C2-n.º 69	SEC (Protocolo P): 7,012 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1120	2

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-Q347C-(C347)_MalPeg6C2-n.º 69	-	1,9
H-E388C-(C388)_MalPeg6C2-n.º 69	-	1,8
H-N421C-(C421)_MalPeg6C2-n.º 69	-	1,8
H-E380C-(C380)_MalPeg6C2-n.º 69	-	1,8
H-L398C+L443C-(C398+C443)_MalPeg6C2-n.º 69	-	3,9
H-K392C+L443C-(C392+C443)_MalPeg6C2-n.º 69	-	3,5
H-kA111C-(kC111)_MalPeg6C2-n.º 69	-	3,7
H-kK183C-(kC183)_MalPeg6C2-n.º 69	-	2,1
H-kK207C-(kC207)_MalPeg6C2-n.º 69	-	2,3
H-A114C-(C 114)_mcValCitPABC-n.º 108	-	2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 84	-	1,9
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 226	-	1,8
H-A114C-(C114)_mc-n.º 108	-	1,9
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 117	-	1,8
H-A114C-(C 114)_mcValCitPABC-n.º 115	-	1,9
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 98	-	1,9
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)mcValCitPABC-n.º 54	-	3,9
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 69	-	3,5
IL13Ra2-AB08-v1010-hG 1-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	-	3,5
IL13Ra2-AB08-v1010-hG 1-(C)_mcValCitPABC-n.º 69	-	4,4
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-0n.º 118	-	1,9
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-0n.º 118	-	1,8
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 80	-	1,8
H-A114C-(C114) mc-n.º 117	-	1,9
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 232	-	1,8

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 230	-	1,9
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 117	-	1,9
H-A114C-(C114) mc-n.º 115	-	2
H-A114C-(C114)_mv-n.º 115	-	2
H-A114C-(C114)_mb-n.º 69	-	2
H-A114C-(C114)_mv-n.º 69	-	2
H-A114C-(C114)_mc-0n.º 118	-	2
H-(C)_mc-n.º 117	SEC (Protocolo P): 7,797 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 937	3,5
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 117	SEC (Protocolo P): 8,005 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1163	3,56
H-(C)_mc-0n.º 118	-	4,1
H-(C)_MalPeg6C2-0n.º 118	SEC (Protocolo P): NA; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1148	3,9
IL13Ra2-AB08-v1010-hG 1-(C)_mc-0n.º 118	-	4
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 226	-	4,6
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 117	-	3,3
IL13Ra2-AB08-v1010-hG 1-(C)_MalPeg6C2-n.º 117	-	3,3
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)MalPeg6C2-0n.º 118	-	2,9
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 226	-	1,9
H-A114C-(C114)_mc-n.º 172	-	1,9
H-A114C-(C114)_mb-0n.º 118	-	1,9
H-A114C-(C114)_me-0n.º 118	-	2
H-A114C-(C114)mcValCitPABC-n.º 134	-	1,9
H-A114C-(C114) mc-n.º 131	-	2
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 126	-	1,9
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 123	-	1,7
H-A114C-(C114)_mc-n.º 126	-	2
H-A114C-(C114)_mv-0n.º 118	-	2
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 226	SEC (Protocolo P): 7,501 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1150	4,5

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-(C)_mc-n.º 226	SEC (Protocolo P): 7,418 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 927	4,5
IL13Ra2-AB08-v1010-hG 1-(C)_MalPeg6C2-n.º 226	-	4,2
Notch-28-cG 1-(C)_mc-0n.º 118	-	4,6
Notch-28-cG1-(C)_mc-n.º 115	SEC (Protocolo P): 7,015 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 911	3,7
Notch-28-cG1-(C)_MalPeg6C2-0n.º 118	-	4,1
Notch-28-cG1-(C)_me-0n.º 118	SEC (Protocolo P): 7,182 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 937	3,9
Notch-75-cG1-(C)_mc-0n.º 118	-	3,3
IL13Ra2-19F9-cG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	-	4,1
IL13Ra2-19F9-cG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	-	4,2
Notch-28-cG1-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	-	4,1
Notch-28-cG 1-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	-	4,3
Notch-75-cG1-(C)_MalPeg6C2-n.º 69	-	3,8
H-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	SEC (Protocolo P): 7,010 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 942	4,1
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-0n.º 118	SEC (Protocolo P): 6,964 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1166	4
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 69	-	2,8
H-(C)_m(H2O)c-n.º 69	-	3,6
H-(C)_me-0n.º 118	-	4,4
H-(C)_mv-0n.º 118	-	4,4
H-(C)_mb-0n.º 118	SEC (Protocolo P): 7,032 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 896	4,1
H-A114C-(C114)_MalC6-n.º 54	-	1,9
H-A114C-(C114)_mc-n.º 231	-	1,7
H-A114C-(C114)_MalC6-0n.º 118	-	2
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 115	SEC (Protocolo P): 6,936 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1152	4,1
H-A114C-(C114)_mc-n.º 158	-	2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 231	-	1,7

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-(C)_m(H2O)c-n.º 115	SEC (Protocolo P): 6,928 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 930	3,7
Notch-75-cG1-(C)_mc-n.º 115	-	3,7
Notch-75-cG1-(C)_me-0n.º 118	-	3,5
Notch-75-cG1-(C)_MalPeg6C2-0n.º 118	-	3,8
H-A114C-(C114)_mc-n.º 237	-	2
H-A114C-(C114)_mc-n.º 145	-	2
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 145	-	2
H-A114C-(C114)_mc-n.º 162	-	1,9
H-A114C-(C114)_MalC6Am-n.º 151	-	1,9
Notch-28-cG1-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	-	3,7
Notch-75-cG1-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	-	3
H-(kK188)_COPeg2C2ValCitPABC-n.º 54	-	2
IL13Ra2-AB08-v1010-hG 1-(C)_Mal(H2O) Peg6C2-0n.º 118	SEC (Protocolo P): 7,766 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1164	3,5
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 115	-	3,9
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_mc-n.º 115	SEC (Protocolo P): 7,813 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 911	4,3
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_m(H2O)c-0n.º 118	-	3,3
H-(C)_mcValCitPABC-0n.º 118	-	4,5
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(C)_m(H2O)c-n.º 115	SEC (Protocolo P): 7,783 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 930	3,8
H-A114C-(C 114)_mcValCitPABC-n.º 154	-	1,9
H-A114C-(C114)_MalC6Am-n.º 153	-	2
IL13Ra2-AB08-v1010-Q347C+kK183C-hG 1-(C347+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	-	4,3
IL13Ra2-AB08-v1010-Q347C-hG 1-(C347)_mcValCitPABC-n.º 54	-	2,1
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(kK188)_COPeg2C2AmPeg2C2-n.º 69	-	2
IL13Ra2-AB08-v1010-hG1-(kK188)_COPeg2C2ValCitPABC-n.º 54	-	1,9

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
IL13Ra2-AB08-v1010-L443C-hG 1-(C443)_mcValCitPABC-n.º 54	-	2,1
IL13Ra2-AB08-V1010-K392C+L443C-hG 1-(C392+C443)_mcValCitPABC-n.º 54	-	3,7
IL13Ra2-AB08-v1010-L443C+kK183C-hG 1-(C443+kC 183)_mcValCitPABC-n.º 54	-	4
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 98	SEC (Protocolo P): 7,232 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1371	4,2
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 246	-	1,9
H-H435A-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	-	4
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 70	-	4,2
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	-	4
H-E388C+N421C-(C388+C421)_mcValCitPABC-n.º 54	-	3,6
H-Q347C+K392C-(C347+C392)_mcValCitPABC-n.º 54	-	3,9
H-L443C+kK183C-(C443+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	-	3,7
H-Q347C+kK183C-(C347+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	SEC (Protocolo P): 8,278 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 1339	3,7
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 54	-	1,9
H-K392C+L443C-(C392+C443)_mc-n.º 115	-	4
H-E388C+N421C-(C388+C421)_mc-n.º 115	-	3,8
H-Q347C+K392C-(C347+C392)_mc-n.º 115	-	4
H-L443C+kK183C-(C443+kC183)_mc-n.º 115	-	3,8
H-Q347C+kK183C-(C347+kC183)_mc-n.º 115	-	3,8
H-Q347C-(C347)_mc-n.º 115	-	2
H-kK183C-(kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	-	1,9
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 54	-	2

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	Espectro de masas: HPLC-SEC tiempo de retención y Δ masa de HPLC para la porción de Cadena pesada (HC) (hasta una diferencia de 6 Da con el Δ masa teórico)	Carga o proporción de fármaco por anticuerpo (DAR)
H-kk183C-(kC183)_mc-n.º 115	-	1,8
H-E388C-(C388)_mc-n.º 115	SEC (Protocolo P): 7,364 minutos; HPLC (Protocolo O): Δ masa de HC = 914	2
H-L443C-(C443)_mc-n.º 115	-	2
H-N421C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 54	-	2
H-N421 C-(C421)_mc-n.º 115	-	2
H-A114C-(C114)_mcGly-n.º 201	-	1,9

Tabla 20 - Valores CI_{50} para compuestos seleccionados (péptidos citotóxicos) de la invención y los Ejemplos de Referencia

Ejemplo n.º	CI_{50} (nM) de BT474 GMEAN	CI_{50} (nM) de N87GMEAN	CI_{50} (nM) de MDA-MB-361-DYT2 GMEAN
n.º 26	0,368	0,543	1,045
n.º 30	0,682	6,709	1,853
n.º 34	0,211	1,95	1,119
n.º 36	0,499	1,205	1,111
n.º 41	29,666	33,21	51,784
n.º 42	0,125	0,327	0,195
n.º 44	7,119	14,61	> 16,401
n.º 45	0,15	0,385	0,415
n.º 47	<0,244	<0,256	0,317
n.º 51	<0,599	3,658	-
n.º 54	<0,133	<0,221	0,206
n.º 56	0,316	1,256	0,766
n.º 60	0,524	1,245	0,957
n.º 66	0,244	0,463	0,334
n.º 69	80,191	65,979	40,988
n.º 70	0,179	0,327	0,225
n.º 75	>100,000	>100,000	>100,000
n.º 79	0,079	0,137	0,129
n.º 80	20,346	28,204	32,846
n.º 84	0,246	0,426	0,686
n.º 115	31,493	50,302	19,870

(continuación)

Ejemplo n.º	CI₅₀ (nM) de BT474 GMEAN	CI₅₀ (nM) de N87GMEAN	CI₅₀ (nM) de MDA-MB-361-DYT2 GMEAN
n.º 117	0,096	0,103	0,118
n.º 118	100,000	100,000	100,000
n.º 123	0,125	0,089	0,129
n.º 126	0,315	0,375	0,454
n.º 130	0,050	0,076	0,039
n.º 131	0,072	0,185	0,081
n.º 134	0,108	0,115	0,134
n.º 140	-	-	-
n.º 141	3,367	3,018	-
n.º 142	0,279	0,259	-
n.º 143	-	-	-
n.º 144	0,172	0,182	0,174
n.º 145	0,185	0,167	0,229
n.º 146	0,435	0,195	0,387
n.º 147	0,456	0,144	0,421
n.º 148	0,429	0,219	0,502
n.º 149	0,417	0,250	0,428
n.º 151	84,867	61,953	84,599
n.º 153	98,160	47,274	91,350
n.º 154	0,193	0,572	0,198
n.º 155	0,323	0,875	0,318
n.º 158	0,082	0,115	0,100
n.º 159	0,070	0,075	0,074
n.º 162	31,448	21,610	27,824
n.º 163	100,000	72,703	99,433
n.º 172	0,057	0,144	0,086
n.º 173	0,088	0,099	0,067
n.º 178	0,968	1,262	0,911
n.º 180	0,159	0,117	0,113
n.º 182	0,153	0,148	0,122
n.º 184	2,478	5,098	3,427
n.º 186	-	-	-

ES 2 657 014 T3

(continuación)

Ejemplo n.º	CI₅₀ (nM) de BT474 GMEAN	CI₅₀ (nM) de N87GMEAN	CI₅₀ (nM) de MDA-MB-361-DYT2 GMEAN
n.º 188	0,250	0,283	0,404
n.º 190	0,134	0,066	0,095
n.º 192	0,262	0,360	0,408
n.º 194	0,134	0,212	0,198
n.º 200	0,048	0,029	0,017
n.º 201	0,144	0,150	0,121
n.º 207	0,219	0,626	0,260
n.º 208	0,418	0,379	0,336
n.º 209	0,067	0,067	0,058
n.º 217	-	-	-
n.º 219	-	-	-
n.º 220	35,163	100,000	100,000
n.º 221	32,402	87,857	65,401
n.º 222	0,158	0,352	0,272
n.º 223	7,589	13,026	10,863
n.º 224	0,383	1,563	0,998
n.º 225	3,449	10,524	7,575
n.º 226	0,118	0,478	0,106
n.º 227	11,008	18,975	12,899
n.º 228	0,105	0,090	0,078
n.º 229	18,372	16,566	10,218
n.º 230	100,000	89,133	70,236
n.º 231	3,706	15,127	22,855
n.º 232	0,071	0,194	0,095
n.º 233	1,074	8,413	5,042
n.º 234	0,684	0,756	2,004
n.º 235	0,852	1,320	1,278
n.º 236	0,020	0,023	0,010
n.º 237	0,162	0,217	0,278
n.º 238	0,139	0,077	0,084
n.º 239	-	-	-
n.º 240	11,710	19,930	23,480
n.º 241	0,364	0,388	0,494

(continuación)

Ejemplo n.º	CI₅₀ (nM) de BT474 GMEAN	CI₅₀ (nM) de N87GMEAN	CI₅₀ (nM) de MDA-MB-361-DYT2 GMEAN
n.º 242	32,330	41,329	34,529
n.º 243	1,252	1,301	1,284
n.º 244	73,123	100,000	100,000
n.º 245	11,793	33,037	31,856
n.º 246	3,159	10,828	5,430
n.º 247	1,007	2,061	1,334
n.º 257	-	-	-

Tabla 21A_ - Valores Cl₅₀ para conjugados seleccionados de la invención y los conjugados de referencia

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 41	0,725	25,592	0,465	16,617	4,02	175,448
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 42	0,502	19,855	0,604	24,783	>14,090	>6681,150
H-(C)_mc-n.º 44	3,553	121,414	14,464	493,077	>841,360	>29495,31 1
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 44	2,603	114,847	5,113	225,594	>440,881	>26346,53 2
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 44	1,318	58,155	1,466	64,663	98,174	4873,851
H-(C)_mcValCitIPABC-n.º 44	0,188	6,717	0,155	5,329	0,781	28,146
H-(C)_Mal-PEG3C2-n.º 45	2,886	103,762	1,513	52,791	>740,001	>27967,74 2
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 45	1,274	49,903	1,423	54,715	111,434	9072,131
H-(C)_mcValCitIPABC-n.º 45	0,258	9,997	0,204	7,988	0,417	16,737
H-(C)_mc-n.º 54	0,436	19,821	0,992	45,072	2,45	138,026
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 69	1,938	5147,54	0,356	12,995	5,743	2427,639
H-(C)_mcValCitIPABC-n.º 69	0,18	7,17	0,073	2,878	<0,185	<8,946
H-(C)_mcValCitIPABC-n.º 70	0,133	4,522	0,078	2,61	0,249	8,722
H-(C)_mc-n.º 79	0,483	18,097	0,654	24,543	7,576	297,254
H-(C)_mcValCitIPABC-n.º 79	0,152	6,634	0,127	5,682	0,469	21,134
H-(C)_mc-n.º 115	0,272	-	0,109	-	0,841	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 51	41,768	-	-	-	17,297	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 47	3,269	-	-	-	8,216	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 54	4,294	-	-	-	7,195	-
H-A114C-(C114)_mcValCitIPABC-n.º 47	0,493	-	0,31	-	0,696	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 54	0,174	-	0,17	-	0,189	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 26	2,548	-	28,2	-	4,314	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 26	>60,648	-	>1000,00	-	>980,026	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 36	2,007	-	26,18	-	13,579	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 42	0,283	-	0,16	-	0,524	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 42	0,81	-	1,54	-	44,164	-
H-(G)-mcValCitPABC-n.º 54	0,292	-	0,27	-	0,345	-
H-(G)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 54	15,134	-	14,33	-	41,016	-
H-(G)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 54	1,898	-	1,4	-	11,71	-
H-(G)_mc-n.º 47	4,429	-	3,52	-	20,007	-
H-(G)_MalPeg3C2-n.º 54	2,181	-	1,54	-	>41,711	-
H-(G)_mc-n.º 54	3,565	-	6,28	-	48,566	-
H-(G)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 47	5,228	-	>1000,00	-	>543,852	-
H-(G)_MalPeg3C2-n.º 47	1,467	-	1,29	-	16,856	-
H-(G)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 42	1,587	-	4,95	-	>1000,00	-
H-(G)_mc-n.º 41	0,506	-	0,68	-	0	-
H-(G)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 26	11,211	-	>1000,00	-	>1000,00	-
H-(G)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 47	0,935	-	2,46	-	14,283	-
H-(G)_MalPeg3C2-n.º 42	0,517	-	0,51	-	5,479	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 26	10,992	-	>1000,00	-	>1000,00 0	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 42	1,819	-	1,97	-	75,643	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 54	2,108	-	1,02	-	>56,928	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 47	1,637	-	1,42	-	31,762	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 26	6,385	-	9,55	-	>817,859	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 42	0,518	-	0,55	-	>7,993	-
H-(C)_mc-n.º 36	>1000,000	-	>1000,00	-	>1000,00	-
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 60	0,835	-	6,45	-	14,917	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 26	11,506	-	9,43	-	>1000,00	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	>1000,000	-	>1000,00	-	>1000,00 0	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABCAmPeg3 C2-n.º 36	>1000,000	-	>1000,00	-	>325,714	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 54	1,228	-	2,01	-	133,426	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 60	>1000,000	-	>1000,00	-	>1000,00	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 60	>1000,000	-	>1000,00	-	>1000,00	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 41	1,166	-	0,36	-	5,882	-
H-(C)-mc-n.º 69	0,427	-	0,47	-	3,05	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 36	720,826	-	>1000,00	-	>1000,00	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 36	>1000,000	-	>1000,00	-	>1000,00 0	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-(C)-MalPeg6C2-n.º 36	878,903	-	159,1	-	>1000,00	-
H-(C)-mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 41	2,363	-	2,28	-	18,728	-
H-(C)-MalPeg3C2-n.º 41	0,725	-	0,54	-	4,004	-
H-(C)-mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 60	979,982	-	>1000,00	-	392,905	-
H-A114C-(C114)-mc-n.º 66	17,235	-	>1000,00	-	>1000,000	-
H-L398C+L443C-(C398+C443)-mcValCitPABC-n.º 54	0,249	-	0,27	-	0,678	-
H-K392C+L443C-(C392+C443)-mcValCitPABC-n.º 54	<0,195	-	0,42	-	<0,254	-
H-L443C-(C443)-mcValCitPABC-n.º 54	<0,130	-	0,32	-	<0,267	-
H-L398C+V422C-(C398+C422)-mcValCitPABC-n.º 54	0,387	-	0,27	-	0,504	-
H-(C)-mc-n.º 44	3,553	-	>507,23	-	>878,489	-
H-(C)-Mal-PEG3C2-n.º 45	2,886	-	68,41	-	>834,717	-
H-(C)-2AcAmPeg6C2-n.º 66	703,419	-	>1000,00	-	>1000,00	-
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 45	1,274	-	2,74	-	>268,047	-
H-(C)-mc-n.º 79	0,483	-	0,65	-	7,576	-
H-(C)-MalPeg3C2-n.º 44	2,603	-	5,11	-	>440,881	-
H-(C)-mcValCitP ABC-n.º 70	0,188	-	0,09	-	<0,179	-
H-(C)-MalPeg6C2-n.º 44	1,318	-	1,47	-	98,174	-
H-A114C-(C114)-mcValCitPABC-n.º 69	0,174	-	0,06	-	0,207	-
H-(C)-mcValCitP ABC-n.º 79	0,152	-	0,15	-	0,469	-
H-A114C-(C114)-mcValCitPABC-n.º 79	0,124	-	0,12	-	0,386	-
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 44	0,252	-	0,18	-	0,732	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 88	8,127	-	>1000,00	-	62,825	-
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 69	0,133	-	0,1	-	0,249	-
H-(C)_2AcAmCapValCitPABC-n.º 66	0,436	-	0,99	-	2,45	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 45	0,217	-	0,2	-	0,496	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 34	3,724	-	>1000,00	-	18,422	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 45	6,431	-	>1000,00	-	148,852	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 70	0,349	-	0,62	-	7,208	-
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	0,226	-	0,24	-	0,469	-
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 69	0,453	-	0,54	-	1,8	-
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 69	0,368	-	0,06	-	0,22	-
H-Y373C-(C373)_mcValCitPABC-n.º 69	0,359	-	0,06	-	0,295	-
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 69	0,427	-	0,06	-	0,314	-
H-N421C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 69	0,434	-	0,09	-	0,244	-
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 69	0,239	-	0,05	-	0,272	-
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 79	0,3	-	0,15	-	0,412	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 95	0,381	-	0,36	-	0,852	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 98	0,171	-	0,24	-	0,258	-
H-A114C-(C114)_MalPeg3C2-n.º 69	0,221	-	0,58	-	1,589	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 42	0,466	-	0,36	-	5,42	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 54	0,557	-	0,37	-	6,899	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 47	0,346	-	0,43	-	4,337	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 36	3,003	-	>1000,00	-	284,267	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 26	0,991	-	1,07	-	35,331	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 66	13,812	-	>1000,00	-	>1000,000	-
H-L443C-(C443)_MalPeg6C2-n.º 69	0,251	-	0,25	-	1,989	-
H-Q347C-(C347)_MalPeg6C2-n.º 69	0,267	-	0,3	-	0,887	-
H-E388C-(C388)_MalPeg6C2-n.º 69	0,382	-	0,46	-	3,035	-
H-N421 C-(C421)_MalPeg6C2-n.º 69	0,35	-	0,45	-	1,329	-
H-E380C-(C380)_MalPeg6C2-n.º 69	0,482	-	0,49	-	5,588	-
H-L398C+L443C-(C398+C443)_MalPeg6C2-n.º 69	0,226	-	0,3	-	1,346	-
H-K392C+L443C-(C392+C443)_MalPeg6C2-n.º 69	0,268	-	0,31	-	1,63	-
H-KA111 C-(kC111)_MalPeg6C2-n.º 69	0,297	-	0,34	-	1,635	-
H-KK183C-(kC183)_MalPeg6C2-n.º 69	0,257	-	0,5	-	2,23	-
H-KK207C-(kC207)_MalPeg6C2-n.º 69	0,252	-	0,41	-	1,744	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 108	0,212	-	0,12	-	0,777	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 84	0,627	-	12,2	-	1,733	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 226	0,2	-	0,1	-	0,239	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 108	>1000,000	-	>1000,00	-	113,889	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 117	0,242	-	0,17	-	0,239	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 115	0,202	-	0,2	-	0,211	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 98	0,576	-	0,47	-	1,46	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-0 n.º 118	0,257	-	0,17	-	0,505	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-0 n.º 118	0,251	-	0,24	-	0,398	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 80	0,341	-	0,31	-	0,887	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 117	0,197	-	0,14	-	0,465	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 232	0,376	-	1,31	-	1,367	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 230	0,504	-	0,85	-	3,179	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 117	0,335	-	0,21	-	0,792	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 115	0,243	-	0,23	-	0,45	-
H-A114C-(C114)_mv-n.º 115	0,21	-	0,15	-	0,65	-
H-A114C-(C114)_mb-n.º 69	0,256	-	0,43	-	2,137	-
H-A114C-(C114)_mv-n.º 69	0,215	-	0,27	-	1,043	-
H-A114C-(C114)_mc-0 n.º 118	0,151	-	0,1	-	0,342	-
H-(C) mc-n.º 117	0,162	-	0,06	-	0,314	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 117	0,283	-	0,07	-	0,515	-
H-(C)_mc-0 n.º 118	0,18	-	<0,10	-	0,303	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 118	0,269	-	0,15	-	0,499	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 226	0,28	-	0,22	-	0,685	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 172	0,296	-	0,41	-	0,694	-
H-A114C-(C114)_mb-0 n.º 118	0,318	-	0,33	-	0,709	-
H-A114C-(C114)_me-0 n.º 118	0,256	-	0,33	-	0,64	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 134	0,301	-	0,34	-	0,501	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 131	0,357	-	0,76	-	1,614	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 126	0,284	-	0,36	-	1,377	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 123	0,362	-	0,34	-	1,867	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 126	0,319	-	0,49	-	3,294	-
H-A114C-(C114)_mv-0 n.º 118	0,209	-	0,25	-	0,719	-
H-(C) MalPeg6C2-n.º 226	0,575	-	0,22	-	1,126	-
H-(C)_mc-n.º 226	0,359	-	0,18	-	0,69	-
H-(C)_m(H2O)c-0 n.º 118	0,26	-	0,11	-	0,448	-
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-0 n.º 118	0,482	-	0,19	-	0,9	-
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 69	0,832	-	0,51	-	5,769	-
H-(C)_Mal(H2O)c-n.º 69	0,418	-	0,28	-	1,529	-
H-(C)_me-0 n.º 118	0,186	-	0,11	-	0,218	-
H-(C)_mv-0 n.º 118	0,201	-	0,14	-	0,265	-
H-(C)_mb-0 n.º 118	0,222	-	0,13	-	0,267	-
H-A114C-(C114)_MalC6-n.º 54	0,662	-	5,11	-	8,003	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 231	>1000,000	-	>1000,00	-	>1000	-
H-A114C-(C114)_MalC6-0 n.º 118	0,976	-	113	-	15,407	-
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 115	1,06	-	0,28	-	3,439	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 158	0,247	-	0,35	-	0,739	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 231	1,178	-	24,41	-	13,447	-
H-(C)_m(H2O)c- n.º 115	0,393	-	0,17	-	0,498	-
H-A114C-(C 114)_mc-n.º 237	0,97	-	0,68	-	27,907	-

(Continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-A1114C-(C114)_mc-n.º 145	4,681	-	585,59	-	643,391	-
H-A1114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 145	12,856	-	190,59	-	89,125	-
H-A1114C-(C114)_mc-n.º 162	0,377	-	0,15	-	1,144	-
H-A1114C-(C114)_MalC6Am- n.º 151	0,42	-	0,1	-	0,694	-
H-(kK188)_COPeg2C2ValCitPAB C- n.º 54		-		-		-
H-(C)_mcValCitPABC-0 n.º 118	0,227	-	0,14	-	0,182	-
H-A1114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 154	0,323	-	0,32	-	0,363	-
H-A1114C-(C114)_MalC6Am- n.º 153	0,377	-	0,27	-	0,34	-
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 98	0,211	-	0,14	-	0,162	-
H-A1114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 246	0,357	-	0,65	-	3,197	-
H-H435A-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	0,358	-	0,17	-	0,237	-
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 70	0,322	-	0,1	-	0,114	-
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	0,354	-		-	0,217	-
H-E388C+N421 C-(C388+C421)_mcValCitPABC-n.º 54	1,38	-	0,99	-	0,855	-
H-Q347C+K392C-(C347+C392)_mcValCitPABC-n.º 54	0,276	-	0,29	-	0,147	-
H-L443C+kK183C-(C443+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	<0,129	-	0,37	-	<0,111	-
H-Q347C+kK183C-(C347+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	0,146	-	0,25	-	0,08	-
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 54	0,153	-	0,33	-	0,111	-
H-K392C+L443C-(C392+C443)_mc-n.º 115	0,323	-	0,1	-	0,304	-
H-E388C+N421 C-(C388+C421)_mc- n.º 115	1,251	-	0,42	-	0,997	-
H-Q347C+K392C-(C347+C392)_mc-n.º 115	0,342	-	0,1	-	0,219	-

(Continuación)

ADC-Engarge-Carga útil n.º	BT474		HCC1954		N87	
	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	Cl ₅₀ (nM)	Cl ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-L443C+KK183C-(C443+KC183)_mc-n.º 115	0,319	-	0,1	-	0,268	-
H-Q347C+KK183C-(C347+KC183)_mc-n.º 115	0,347	-	0,1	-	0,403	-
H-Q347C-(C347)_mc-n.º 115	0,272	-	0,18	-	0,278	-
H-kK183C-(KC183)_mcValCitPABC-n.º 54	0,287	-	0,34	-	0,194	-
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 54	0,098	-	0,38	-	0,084	-
H-kK183C-(KC183)_mc-n.º 115	0,28	-	0,27	-	0,269	-
H-E388C-(C388)_mc-n.º 115	0,302	-	0,15	-	0,301	-
H-L443C-(C443)_mc-n.º 115	0,222	-	0,1	-	0,259	-
H-N421 C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 54	<0,051	-	0,42	-	<0,051	-
H-N421C-(C421)_mc-n.º 115	0,312	-	0,23	-	0,306	-
H-A114C-(C114)_mcGly- n.º 201	0,321	-		-		-

Tabla 21B - Valores CI₅₀ para conjugados seleccionados de la invención y los conjugados de referencia

ADC-Engarce-Carga útil n.º	DYT2		MDA-MB-468	
	CI ₅₀ (nM)	CI ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)	CI ₅₀ (nM)	CI ₅₀ de Anticuerpo (ng/ml)
H-(C) MalPeg3C2-n.º 41	>69,685	>17528,581	-	>35714,286
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 42	33,396	5455,61	>629,281	>25857,971
H-(C)_mc-n.º 44	>1000,000	>34090,909	>1000,000	>34090,909
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 44	>1000,000	>44117,647	>1000,000	>44117,647
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 44	>1000,000	>44117,647	>1000,000	>44117,647
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 44	0,203	7,246	>1000,000	>35714,286
H-(C)_Mal-PEG3C2-n.º 45	>1000,000	>34883,721	>1000,000	>34883,721
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 45	>1000,000	>38461,538	>1000,000	>38461,538
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 45	0,371	14,304	613,294	24435,914
H-(C)_mc-n.º 54	>1000,000	>45454,545	>1000,000	>45454,545
H-(C)_Mal-PEG6C2-n.º 69	>467,163	>29849,279	>1000,000	>35714,286
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 69	0,156	7,54	547,953	21860,354
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 70	0,098	3,332	>1000,000	>33333,333
H-(C)_mc-n.º 79	>1000,000	>37500,000	978,508	36694,065
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 79	0,212	9,528	351,392	15383,462
H-(C)_mc-n.º 115	0,21	-	-	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 51	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 47	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 54	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 47	383,667	-	445,014	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 54	0,372	-	362,213	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 26	>1000,000	-	>930,555	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 26	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 36	>927,422	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 42	0,436	-	530,596	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 42	>727,245	-	567,735	-
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 54	0,275	-	471,905	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 54	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C) mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 54	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mc-n.º 47	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 54	>1651,007	-	>1651,007	-

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	DYT2		MDA-MB-468	
	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)
H-(C)_mc-n.º 54	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 47	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 47	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 42	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mc-n.º 41	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 26	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 47	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 42	9,675	-	358,435	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 26	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 42	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 54	>1731,544	-	>1731,544	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 47	>1651,007	-	>1651,007	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 26	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 42	5,705	-	>642,029	-
H-(C)_mc-n.º 36	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 60	>699,241	-	>544,495	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 26	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	>1000,000	-	> 1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 36	>1000,000	-	> 1000,000	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 54	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 60	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 60	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 41	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)-mc-n.º 69	>71,831	-	>899,249	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 36	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 36	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 36	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg3C2-n.º 41	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)-MalPeg3C2-n.º 41	>69,685	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABCAmPeg6C2-n.º 60	>1000,000	-	>1000,000	-

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	DYT2		MDA-MB-468	
	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)
H-A114C-(C114)_mc-n.º 66	>1000,000	-	>1000,000	-
H-L398C+L443C-(C398+C443)_mcValCitPABC-n.º 54	0,463	-	801,354	-
H-K392C+L443C-(C392+C443)_mcValCitPABC-n.º 54	<0,171	-	565,01	-
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 54	0,371	-	500,958	-
H-L398C+V422C-(C398+C422)_mcValCitPABC-n.º 54	0,48	-	610,884	-
H-(C)_mc-n.º 44	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_Mal-PEG3C2-n.º 45	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_2AcAmPeg6C2-n.º 66	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 45	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mc-n.º 79	>1000,000	-	978,508	-
H-(C)_MalPeg3C2-n.º 44	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 70	0,116	-	547,953	-
H-(C)-MalPeg6C2-n.º 44	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 69	0,083	-	>1000,000	-
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 79	0,212	-	351,392	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 79	0,199	-	472,593	-
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 44	0,248	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 88	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)-mcValCitPABC-n.º 69	0,098	-	>1000,000	-
H-(C)_2AcAmCapValCitPABC-n.º 66	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 45	2,37	-	>968,025	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 34	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 45	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 70	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 112	0,185	-	>563,999	-
H-(C)-Mal-PEG6C2-n.º 69	0,963	-	748,275	-
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 69	0,094	-	>1000,000	-
H-Y373C-(C373)_mcValCitPABC-n.º 69	0,156	-	>1000,000	-
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 69	0,117	-	>1000,000	-

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	DYT2		MDA-MB-468	
	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)
H-N421C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 69	0,162	-	>1000,000	-
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 69	0,1	-	>1000,000	-
H-L443C-(C443)_mcValCitPABC-n.º 79	0,303	-	370,53	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 95	61,8	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 98	0,218	-	609,904	-
H-A114C-(C114)_MalPeg3C2-n.º 69	>1000,000	-	>1000,000	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 42	>1000,000	-	>1000,000	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 54	>1000,000	-	>1000,000	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 47	>1000,000	-	>1000,000	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 36	>1000,000	-	>1000,000	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 26	>1000,000	-	>1000,000	-
H-N297Q-(Q)_AmPeg6C2-n.º 66	>1000,000	-	>1000,000	-
H-L443C-(C443)_MalPeg6C2-n.º 69	>1000,000	-	758,157	-
H-Q347C-(C347)_MalPeg6C2-n.º 69	1,752	-	832,08	-
H-E388C-(C388)_MalPeg6C2-n.º 69	6,883	-	>973,529	-
H-N421C-(C421)_MalPeg6C2-n.º 69	1,027	-	472,466	-
H-E380C-(C380)_MalPeg6C2-n.º 69	>65,641	-	873,254	-
H-L398C+L443C-(C398+C443)_MalPeg6C2-n.º 69	0,827	-	846,418	-
H-K392C+L443C-(C392+C443)_MalPeg6C2-n.º 69	>32,438	-	804,407	-
H-kA111C-(kC111)_MalPeg6C2-n.º 69	0,423	-	740,791	-
H-kK183C-(kC183)_MalPeg6C2-n.º 69	>1000,000	-	749,154	-
H-kK207C-(kC207)_MalPeg6C2-n.º 69	>138,618	-	586,857	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 108	>1000,000	-	873,831	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 84	976,796	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 226	0,101	-	385,851	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 108	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 117	0,107	-	469,882	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 115	0,142	-	989,147	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 98	355,331	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-0 n.º 118	0,126	-	>865,455	-

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	DYT2		MDA-MB-468	
	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-0 n.º 118	0,215	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 80	0,432	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 117	0,107	-	>414,892	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 232	38,422	-	959,259	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 230	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 117	0,179	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 115	0,238	-	>699,755	-
H-A114C-(C114)_mv-n.º 115	0,322	-	>668,891	-
H-A114C-(C114)_mb-n.º 69	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mv-n.º 69	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-0 n.º 118	0,098	-	432,816	-
H-(C)_mc-n.º 117	<0,093	-	194,684	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 117	<0,080	-	361,061	-
H-(C)_mc-0 n.º 118	<0,073	-	541,542	-
H-(C)_MalPeg6C2-0 n.º 118	0,074	-	465,455	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 226	0,513	-	574,794	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 172	1,48	-	500,864	-
H-A114C-(C114)_mb-0 n.º 118	0,208	-	506,604	-
H-A114C-(C114)_me-0 n.º 118	0,236	-	903,571	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 134	1,434	-	648,066	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 131	>1000,000	-	480,901	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 126	54,268	-	656,645	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 123	>1000,000	-	543,693	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 126	>1000,000	-	749,49	-
H-A114C-(C114)_mv-0 n.º 118	0,147	-	490,276	-
H-(C)_MalPeg6C2-n.º 226	0,206	-	582,309	-
H-(C)_mc-n.º 226	0,219	-	477,622	-
H-(C)_m(H2O)c-0 n.º 118	0,071	-	306,626	-
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-0 n.º 118	<0,059	-	441,766	-
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 69	0,203	-	459,502	-
H-(C)_m(H2O)c- n.º 69	0,315	-	740,334	-

ES 2 657 014 T3

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	DYT2		MDA-MB-468	
	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)
H-(C)_me-0 n.º 118	<0,061	-	455,314	-
H-(C)_mv-0 n.º 118	0,084	-	531,617	-
H-(C)_mb-0 n.º 118	0,076	-	584,327	-
H-A114C-(C114)_MalC6- n.º 54	52,056	-	65,721	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 231	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_MalC6-0 n.º 118	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_Mal(H2O)Peg6C2-n.º 115	0,095	-	698,101	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 158	0,164	-	329,554	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 231	>1000,000	-	>1000,000	-
H-(C)_m(H2O)c-n.º 115	<0,069	-	534,743	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 237	>1000,000	-	646,464	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 145	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_MalPeg6C2-n.º 145	>1000,000	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mc-n.º 162	0,201	-	676,764	-
H-A114C-(C 114)_MalC6Am-n.º 151	0,469	-	75,696	-
H-(kK188)_ COPeg2C2ValCitPABC-n.º 54	-	-	-	-
H-(C)_mcValCitPABC-0 n.º 118	0,081	-	>1000,000	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 154	1,708	-	566,056	-
H-A114C-(C 114)_MalC6Am-n.º 153	0,114	-	69,259	-
H-(C)_mcValCitPABC-n.º 98	0,23	-	270,019	-
H-A114C-(C114)_mcValCitPABC-n.º 246	>1000,000	-	>1000,000	-
H-H435A-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	0,208	-	339,77	-
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 70	0,069	-	380,393	-
H-M428L+N434S-(C)_mcValCitPABC-n.º 54	0,178	-	-	-
H-E388C+N421 C-(C388+C421)_ mcValCitPABC-n.º 54	1,033	-	826,243	-
H-Q347C+K392C- (C347+C392)_mcValCitPABC-n.º 54	0,103	-	390,7	-
H-L443C+kK183C- (C443+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	<0,103	-	395,707	-
H-Q347C+kK183C- (C347+kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	<0,051	-	384,028	-
H-Q347C-(C347)_mcValCitPABC-n.º 54	2,89	-	393,412	-

(continuación)

ADC-Engarce-Carga útil n.º	DYT2		MDA-MB-468	
	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)	CI50 (nM)	CI50 de Anticuerpo (ng/ml)
H-K392C+L443C-(C392+C443)_mc-n.º 115	0,07	-	542,081	-
H-E388C+N421C-(C388+C421)_mc-n.º 115	0,227	-	>1000,000	-
H-Q347C+K392C-(C347+C392)_mc-n.º 115	0,068	-	934,867	-
H-L443C+kK183C-(C443+kC183)_mc-n.º 115	0,071	-	757,604	-
H-Q347C+kK183C-(C347+kC183)_mc-n.º 115	0,073	-	741,434	-
H-Q347C-(C347)_mc-n.º 115	0,098	-	888,128	-
H-kK183C-(kC183)_mcValCitPABC-n.º 54	1,329	-	160,012	-
H-E388C-(C388)_mcValCitPABC-n.º 54	0,658	-	287,88	-
H-kK183C-(kC183)_mc- n.º 115	0,179	-	775,698	-
H-E388C-(C388)_mc-n.º 115	0,124	-	958,96	-
H-L443C-(C443)_mc-n.º 115	0,108	-	451,857	-
H-N421C-(C421)_mcValCitPABC-n.º 54	0,601	-	263,107	-
H-N421C-(C421)_mc-n.º 115	0,108	-	668,857	-
H-A114C-(C114)_mcGly- n.º 201	0,073	-	-	-

Tabla 22 - Valores farmacocinéticos seleccionados en ratas para los conjugados de la invención y valores farmacocinéticos seleccionados en ratas para conjugados que comprenden MMAD, MMAE o MMAF. Las AUC se calcularon a 0-última de 0-336 h excepto donde se indique.

ADC	Dosis	AUC (0-última) (µg*Horas/ml)		Relación ADC/Ac
		ADC	Ac	
H(C)-n.º D54	3	3390 ¹	4560 ¹	74
	10	13200 ¹	16400 ¹	80
	30	37800 ²	41700 ¹	91
H(C)-n.º A69	10	14140	20840	68
	30	44040	63480	69
	100	146000	212000	69
H(C)-MalPEG6C2-MMAD	10	13300	15780	84
	30	56180	60280	93
	100	134400	146800	92
H(C)-mc-MMAD	10	7650	14500	53
	30	20700	43800	47
	100	58000	121000	48

(Continuación)

ADC	Dosis	AUC (0-última) (µg*Horas/ml)		Relación ADC/Ac
		ADC	Ac	
H(C)-vc-MMAE	3	1080 ³	2950 ³	37
	10	3930 ³	10600 ³	37
	30	13400 ³	18400 ³	-
H(C)-mc-MMAF	10	10700	24500	44
	30	32000	71500	45
	100	83600	176000	48
H(K)-MCC-DM1	3	3800	5200	73
	10	12800	16200	79
	30	39100	49600	79

¹ denota un 0-última de 0-312 horas
² denota un 0-última de 0-168 horas
³ denota un 0-última de 0-96 horas

Tabla 23 - Valores farmacocinéticos seleccionados en ratones para conjugados de la invención y para conjugados que comprenden MMAD, MMAE o MMAF. Las AUC se calcularon a 0-última de 0-336 h excepto donde se indique.

ADC	Dosis	AUC (0-última) (µg*Horas/ml)		Relación ADC/Ac
		ADC	Ac	
H(C)-n.º D44	3	1070 ¹	2720 ¹	39
H(C)-n.º D70	3	2240	4890	46
H(C)-n.º D69	3	2490	4770	52
H(C)-n.º A69	3	3594	5722	63
H(C)-MalPEG6C2-MMAD	3	2641	5415	49
H(C)-mc-MMAD	3	3580	4970	72
H(C)-vc-MMAE	3	1600	3290	49
H(C)-mc-MMAF	3	3080	4800	64

¹ denota un 0-última de 0-168 horas

Tabla 24 - Datos que muestran la estabilidad de los conjugados preparados usando engarces a base de succinimida de anillo abierto frente a de anillo cerrado.

ADC herceptina		Estabilidad GHS (6d) (% de carga que queda el día 6)	AUC de ADC de ratón (ug*h/ml)	PK de ratón ADC/Ab
mc n.º 118	anillo cerrado	65 %	2160	55 %
	anillo abierto	87 %	3490	65 %

5

(Continuación)

ADC herceptina		Estabilidad GHS (6d) (% de carga que queda el día 6)	AUC de ADC de ratón (ug*h/ml)	PK de ratón ADC/Ab
MalPeg6C2-n.º 118	anillo cerrado	82 %	2010	70 %
	anillo abierto	100 %	3000	77 %
mc n.º 8261	anillo cerrado	51 %	3590	52 %
	anillo abierto	96 %	4470	73 %
MalPeg6C2-n.º 8261	anillo cerrado	61 %	2950	72 %
	anillo abierto	104 %	-	-
mc n.º 115	anillo cerrado	-	1930	58 %
	anillo abierto	-	2330	68 %

Tabla 25A - Cargas seleccionadas y sus procedimientos de síntesis

Ejemplo	Preparado de la misma manera que o Procedimiento de Preparación	Procedimiento de Purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
n.º 220	ejemplo n.º 107	Procedimiento M	10,5 mg (43 %)
n.º 221	ejemplo n.º 107	Procedimiento M	15,2 mg (76 %)
n.º 222	Procedimiento general L	Procedimiento J*	14 mg (39 %)
n.º 223	Procedimiento general L	Procedimiento J*	16,6 mg (42 %)
n.º 224	Procedimiento general L	Procedimiento J*	18,8 mg (68 %)
n.º 225	Procedimiento general L	Procedimiento J*	17,3 mg (64 %)
n.º 226	ejemplo n.º 146	cromatografía de sílice	354 mg (78 %)
n.º 227	Procedimiento general L	Procedimiento J*	19,4 mg (77 %)
n.º 228	ejemplo n.º 131	Procedimiento E1*	30 mg (51 %)
n.º 229	ejemplo n.º 151	Procedimiento J*	16 mg (61 %)
n.º 230	Procedimiento general L	Procedimiento J*	69 mg (42 %)
n.º 231	Procedimiento general L*	Procedimiento J*	4,2 mg (44 %)
n.º 232	ejemplo n.º 98	Procedimiento J*	113 mg (50 %)
n.º 233	ejemplo n.º 146	cromatografía de sílice	88 mg (82 %)
n.º 234	Procedimiento general L	Procedimiento J*	8,5 mg (78 %)
n.º 235	Procedimiento general L*	Procedimiento J*	27 mg (77 %)
n.º 236	ejemplo n.º 131	aquiral	3,7 mg (14 %)
n.º 237	ejemplo n.º 145	cromatografía de sílice	38,6 mg (93 %)
n.º 238	ejemplo n.º 145	cromatografía de sílice	419mg (81 %)
n.º 239	ejemplo n.º 130	cromatografía de sílice	315 mg (48 %)
n.º 240	ejemplo n.º 142	Procedimiento E1*	6 mg (20 %)
n.º 241	ejemplo n.º 142	Procedimiento E1*	6 mg (20 %)

(continuación)

Ejemplo	Preparado de la misma manera que o Procedimiento de Preparación	Procedimiento de Purificación	Cantidad en mg (Rendimiento)
n.º 242	ejemplo n.º 145	Procedimiento J*	8 mg (10 %)
n.º 243	ejemplo n.º 145	Procedimiento J*	12 mg (22 %)
n.º 244	ejemplo n.º 145	Procedimiento J*	9,6 mg (20 %)
n.º 245	Procedimiento general M	presión media	38 mg (55 %)
n.º 246	ejemplo n.º 130	presión media	78 mg (80 %)
n.º 247	ejemplo n.º 178	Procedimiento M*	10,5 mg (57 %)

Tabla 25B - Cargas seleccionadas y sus nombres IUPAC y datos de caracterización

Ejemplo	NOMBRE IUPAC	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) a menos que se indique otra cosa
n.º 220	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-[(2R,4S)-4-carboxi-1-fenilpentan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	HPLC (Protocolo CB): <i>m/z</i> 746,51 [M+H ⁺] (1,57 minutos)
n.º 221	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3R,4S,5S)-1-((2S)-2-[(1R,2R)-3-(biciclo[1,1,1]pent-1-ilamino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil] pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	HPLC (Protocolo DB): <i>m/z</i> 622,42 [M+H ⁺] (1,57 minutos)
n.º 222	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(1R)-2-metoxi-2-oxo-1-(1-fenilciclopropil)etil]amino)-2-metil-3-oxopropil] pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo H): <i>m/z</i> 744,9 [M+H ⁺] (2,19 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃) δ 7,16-7,22 (m), 6,99-7,08 (m), 6,42-6,51 (m), 6,10-6,17 (m), 4,87-4,96 (m), 4,65-4,79 (m), 4,27-4,36 (m), 4,04-4,27 (m), 3,95-4,02 (m), 3,87-3,93 (m), 3,64-3,84 (m), 3,44-3,57 (m), 3,22-3,42 (m), 3,08-3,17 (m), 2,98-3,07 (m), 2,90-2,93 (m), 2,85-2,89 (m), 2,53-2,57 (m), 2,35-2,51 (m), 2,19-2,27 (m), 2,02-2,16 (m), 1,93-2,00 (m), 1,77-1,90 (m), 1,57-1,70 (m), 1,35-1,52 (m), 1,26-1,33 (m), 1,19-1,25 (m), 1,11-1,16 (m), 1,03-1,11 (m), 0,83-1,02 (m), 0,79-0,88 (m).
n.º 223	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3R,4S,5S)-3-metoxi-1-((2S)-2-[(1R,2R)-1-metoxi-3-[(1S)-2-metoxi-2-oxo-1-(1-fenilciclopropil)etil]amino)-2-metil-3-oxopropil] pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo H): <i>m/z</i> 744,4 [M+H ⁺] (2,17 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,19-8,24 (m), 7,87-7,92 (m), 7,20-7,38 (m), 4,71-5,04 (m), 4,61-4,71 (m), 4,47-4,52 (m), 4,38-4,44 (m), 4,05-4,13 (m), 3,99-4,04 (m), 3,90-3,98 (m), 3,64-3,73 (m), 3,52-3,60 (m), 3,46-3,52 (m), 3,37-3,46 (m), 3,35-3,37 (m), 3,29-3,35 (m), 3,24-3,28 (m), 3,15-3,19 (m), 3,08-3,14 (m), 3,01-3,06 (m), 2,84-2,87 (m), 2,43-2,63 (m), 1,96-2,20 (m), 1,68-1,95 (m), 1,60-1,66 (m), 1,52-1,57 (m), 1,33-1,44 (m), 1,27-1,32 (m), 1,23-1,27 (m), 1,12-1,17 (m), 1,04-1,10 (m), 0,96-1,03 (m), 0,90-0,96 (m), 0,82-0,90 (m).

(Continuación)

Ejemplo	NOMBRE IUPAC	Espectro de masas: m/z de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) a menos que se indique otra cosa
n.º 224	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((1 <i>R</i>)-1-[(7 <i>R</i>)-bicyclo[4,2,0] octa-1,3,5-trien-7-il]-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo H): m/z 730,8 [$\text{M}+\text{H}^+$] (2,15 minutos). RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ 7,09-7,18 (m), 6,95-7,08 (m), 4,88-4,93 (m), 4,75-4,85 (m), 4,72-4,74 (m), 4,62-4,70 (m), 4,50-4,59 (m), 4,09-4,16 (m), 3,96-4,06 (m), 3,82-3,90 (m), 3,67-3,76 (m), 3,58-3,67 (m), 3,58-3,67 (m), 3,45-3,54 (m), 3,33-3,44 (m), 3,33-3,44 (m), 3,28-3,33 (m), 3,10-3,27 (m), 3,00-3,10 (m), 2,93-3,00 (m), 2,75-2,78 (m), 2,56-2,65 (m), 2,36-2,45 (m), 2,17-2,35 (m), 1,94-2,16 (m), 1,67-1,94 (m), 1,48-1,67 (m), 1,27-1,33 (m), 1,23-1,27 (m), 1,17-1,26 (m), 1,08-1,17 (m), 0,98-1,07 (m), 0,86-0,98 (m), 0,77-0,84 (m).
n.º 225	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((1 <i>S</i>)-1-[(7 <i>S</i>)-bicyclo[4,2,0] octa-1,3,5-trien-7-il]-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo H): m/z 730,9 [$\text{M}+\text{H}^+$] (2,19 minutos)
n.º 226	<i>N</i> ,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-3-((2 <i>S</i>)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q): m/z 732,4 [$\text{M}+\text{H}^+$] (1,24 minutos). RMN ^1H δ 8,47-8,53 (m), 8,24-8,29 (m), 7,81-7,91 (m), 7,14-7,27 (m), 4,54-4,75 (m), 4,44-4,54 (m), 3,94-4,02 (m), 3,72-3,78 (m), 3,61-3,69 (m), 3,28-3,36 (m), 3,14-3,28 (m), 2,99-3,08 (m), 2,81-2,97 (m), 2,29-2,57 (m), 2,16-2,29 (m), 1,91-2,16 (m), 1,60-1,87 (m), 1,35-1,53 (m), 0,99-1,33 (m), 0,80-0,99 (m), 0,71-0,80 (m).
n.º 227	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((1 <i>S</i>)-1-[(7 <i>R</i>)-bicyclo[4,2,0] octa-1,3,5-trien-7-il]-2-metoxi-2-oxoetil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q): m/z 730,4 [$\text{M}+\text{H}^+$] (1,29 minutos)
n.º 228	<i>N,N</i> ,2-trimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-3-((2 <i>S</i>)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il)]amino)-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	HPLC (Protocolo A*): m/z 746,5 [$\text{M}+\text{H}^+$] (7,103 minutos)
n.º 229	<i>N,N</i> ,2-trimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((1 <i>S</i>)-1-carboxi-2-feniletil)amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): m/z 732,3 [$\text{M}+\text{H}^+$] (0,70 minutos)

(Continuación)

Ejemplo	NOMBRE IUPAC	Espectro de masas: <i>m/z</i> de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) a menos que se indique otra cosa
n.º 230	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-[(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-[(<i>R</i>)-carboxi(1-fenilciclopropil)metil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	HPLC (Protocolo G): <i>m/z</i> 730,4 [M+H ⁺] (1,25 minutos)
n.º 231	difluoro {2-metilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-[(2 <i>S</i>)-2-[(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,7 <i>S</i>)-7-bencil-15-{2-[(3,5-dimetil-1 <i>H</i> -pirrol-2-il-kappaN) metilideno]-2 <i>H</i> -pirrol-5-il-kappaN]-4-metil-5,8,13-trioxo-2-oxa-6,9,12-triazapentadecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamidato}boro	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 1020,6 [M+H ⁺] (0,83 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,19-8,23 (m), 7,99-8,07 (m), 7,93-7,98 (m), 7,41-7,45 (m), 7,23-7,31 (m), 7,17-7,22 (m), 7,00-7,04 (m), 6,32-6,37 (m), 6,20-6,24 (m), 4,72-4,93 (m), 4,61-4,69 (m), 4,05-4,17 (m), 3,88-3,93 (m), 3,72-3,81 (m), 3,63-3,70 (m), 3,56-3,62 (m), 3,48-3,56 (m), 3,25-3,44 (m), 3,16-3,25 (m), 3,09-3,14 (m), 2,98-3,09 (m), 2,81-2,90 (m), 2,54-2,67 (m), 2,39-2,53 (m), 2,09-2,32 (m), 1,75-1,97 (m), 1,60-1,69 (m), 1,52-1,59 (m), 1,32-1,44 (m), 1,28-1,32 (m), 1,16-1,21 (m), 0,98-1,09 (m), 0,86-0,98 (m), 0,79-0,90 (m).
n.º 232	2-metil-D-prolil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-[(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-[(1 <i>S</i>)-2-fenil-1-(1,3-tiazol-2-il)etil]amino]propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q): <i>m/z</i> 769,3 [M+H ⁺] (1,34 minutos). RMN ¹ H δ 9,04-9,17 (m), 8,88-8,94 (m), 8,70-8,86 (m), 8,62-8,67 (m), 7,79-7,84 (m), 7,76-7,79 (m), 7,65-7,69 (m), 7,61-7,64 (m), 7,20-7,31 (m), 7,12-7,20 (m), 5,44-5,52 (m), 5,34-5,46 (m), 4,70-4,78 (m), 4,56-4,67 (m), 4,47-4,54 (m), 3,94-4,04 (m), 3,76-3,83 (m), 3,52-3,61 (m), 3,36-3,52 (m), 3,28-3,35 (m), 3,10-3,27 (m), 2,93-3,08 (m), 2,77-2,80 (m), 2,64-2,70 (m), 2,35-2,54 (m), 2,09-2,34 (m), 1,96-2,09 (m), 1,54-1,88 (m), 1,38-1,52 (m), 1,18-1,36 (m), 1,03-1,13 (m), 0,81-1,01 (m), 0,68-0,81 (m).
n.º 233	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i>)-3-[(2 <i>S</i>)-1-[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-4-[(<i>N</i> -[(3-aminooxetan-3-il)carbonil]-L-valil](metil)amino]-3-metoxi-5-metilheptanoil]pirrolidin-2-il]-3-metoxi-2-metilpropanoil]-L-fenilalaninato de metilo	CL-EM (Protocolo Q): <i>m/z</i> 732,2 [M+H ⁺] (1,28 minutos). RMN ¹ H δ 8,48-8,53 (m), 8,22-8,28 (m), 7,80-7,92 (m), 7,14-7,28 (m), 4,74-4,79 (m), 4,54-4,72 (m), 4,43-4,52 (m), 4,24-4,35 (m), 4,07-4,12 (m), 3,94-4,02 (m), 3,72-3,78 (m), 3,61-3,69 (m), 3,48-3,58 (m), 3,40-3,48 (m), 3,11-3,35 (m), 2,98-3,11 (m), 2,75-2,97 (m), 2,64-2,69 (m), 2,30-2,55 (m), 2,17-2,28 (m), 2,03-2,14 (m), 1,92-2,02 (m), 1,59-1,87 (m), 1,35-1,54 (m), 1,21-1,33 (m), 1,112-1,20 (m), 1,00-1,09 (m), 0,70-0,98 (m).
n.º 234	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-[(2 <i>S</i>)-2-[(3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,7 <i>S</i> ,12 <i>S</i>)-7-bencil-14-[3-cloro-4-(propan-2-iloxi)fenil]-4-metil-12-[4-(8-metilimidazo[1,2- <i>a</i>]piridin-2-il) bencil]-5,8,14-trioxo-2,9-dioxa-6,13-diazatetradecan-3-il]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo H): <i>m/z</i> 589,9 [M+H ⁺] (2,29 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,55-8,61 (m), 8,40-8,45 (m), 8,34-8,39 (m), 8,23-8,28 (m), 8,14-8,19 (m), 7,84-7,95 (m), 7,79-7,84 (m), 7,71-7,77 (m), 7,61-7,68 (m), 7,46-7,52 (m), 7,34-7,40 (m), 7,09-7,27 (m), 7,03-7,09 (m), 4,77-4,90 (m), 4,58-4,77 (m), 4,43-4,55 (m), 4,17-4,33 (m), 4,07-4,16 (m), 4,00-4,07 (m), 3,79-3,85 (m), 3,58-3,70 (m), 3,44-3,52 (m), 3,12-3,40 (m), 2,80-3,12 (m), 2,64-2,71 (m), 2,62-2,64 (m), 2,38-2,47 (m), 2,00-2,33 (m), 1,66-2,00 (m), 1,46-1,63 (m), 1,29-1,44 (m), 1,07-1,16 (m), 0,91-1,07 (m), 0,79-0,87 (m).
n.º 235	2-metilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-[(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-[(2 <i>S</i>)-1-[(4-(5-fluoro-1,3-benzotiazol-2-il)-2-metilfenil]amino]-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 944,3 [M+H ⁺] (0,84 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,54-8,59 (m), 8,29-8,33 (m), 7,87-8,02 (m), 7,80-7,87 (m), 7,68-7,74 (m), 7,62-7,67 (m), 7,20-7,38 (m), 4,98-5,06 (m), 4,84-4,97 (m), 4,66-4,79 (m), 4,61-4,66 (m), 4,13-4,19 (m), 3,98-4,04 (m), 3,91-3,96 (m), 3,79-3,85 (m), 3,64-3,73 (m), 3,38-3,56 (m), 3,34-3,38 (m), 3,28-3,34 (m), 3,17-3,27 (m), 3,12-3,16 (m), 3,03-3,11 (m), 2,99-3,03 (m), 2,86-2,87 (m), 2,80-2,82 (m), 2,69-2,71 (m), 2,31-2,54 (m), 2,27-2,31 (m), 2,06-2,27 (m), 1,88-2,00 (m), 1,74-1,88 (m), 1,64-1,74 (m), 1,59-1,64 (m), 1,50-1,59 (m), 1,27-1,48 (m), 1,19-1,26 (m), 1,11-1,16 (m), 1,06-1,11 (m), 0,96-1,05 (m), 0,86-0,94 (m), 0,77-0,83 (m).

(Continuación)

Ejemplo	NOMBRE IUPAC	Espectro de masas: <i>m/z</i> de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) a menos que se indique otra cosa
n.º 236	1,2-dimetil-D-prolil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-{{(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-3-{{(2 <i>S</i>)-1-metoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 758,3 [M+H ⁺] (0,74 minutos)
n.º 237	N,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-{{(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-{{(2 <i>S</i>)-3-(1 H-indol-3-il)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 771,2 [M+H ⁺] (0,67 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,95-7,96 (m), 7,48-7,55 (m), 7,45-7,48 (m), 7,26-7,31 (m), 6,94-7,18 (m), 5,45-5,49 (m), 5,19-5,22 (m), 5,11-5,17 (m), 4,97-5,00 (m), 4,78-4,87 (m), 4,68-4,77 (m), 4,59-4,64 (m), 4,27-4,34 (m), 3,99-4,16 (m), 3,84-3,92 (m), 3,78-3,82 (m), 3,62-3,78 (m), 3,49-3,59 (m), 3,41-3,49 (m), 3,20-3,41 (m), 2,99-3,20 (m), 2,95-2,98 (m), 2,82-2,86 (m), 2,77-2,79 (m), 2,62-2,68 (m), 2,28-2,49 (m), 2,19-2,27 (m), 1,98-2,16 (m), 1,56-1,91 (m), 1,31-1,49 (m), 1,19-1,30 (m), 1,15-1,19 (m), 1,06-1,13 (m), 0,88-1,03 (m), 0,79-0,87 (m).
n.º 238	N,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-{{(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-{{(2 <i>S</i>)-1-oxo-3-fenil-1-(prop-2-en-1-iloxi)propan-2-il]amino}propil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 758,84 [M+H ⁺] (0,71 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 7,15-7,32 (m), 5,86-6,00 (m), 5,28-5,40 (m), 5,17-5,27 (m), 4,97-5,04 (m), 4,69-4,91 (m), 4,57-4,69 (m), 4,05-4,21 (m), 3,91-3,96 (m), 3,79-3,88 (m), 3,71-3,78 (m), 3,62-3,70 (m), 3,25-3,56 (m), 3,15-3,24 (m), 3,08-3,14 (m), 2,90-3,02 (m), 2,79-2,87 (m), 2,42-2,52 (m), 2,20-2,38 (m), 2,12-2,20 (m), 2,03-2,12 (m), 2,00-2,03 (m), 1,71-2,1,96 (m), 1,33-1,70 (m), 1,23-1,32 (m), 1,17-1,23 (m), 1,12-1,17 (m), 1,05-1,10 (m), 0,94-1,05 (m), 0,82-0,89 (m).
n.º 239	2-metil-L-prolil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-{{(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-{{(2 <i>S</i>)-1- <i>tert</i> -butoxi-1-oxo-3-fenilpropan-2-il]amino}-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il}-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q): <i>m/z</i> 786,6 [M+H ⁺] (1,46 minutos). RMN ¹ H δ 8,35-8,42 (m), 8,21-8,31 (m), 8,14-8,20 (m), 7,15-7,29 (m), 4,66-4,76 (m), 4,53-4,65 (m), 4,46-4,53 (m), 4,32-4,42 (m), 4,07-4,15 (m), 3,96-4,04 (m), 3,76-3,82 (m), 3,41-3,61 (m), 3,30-3,38 (m), 3,16-3,30 (m), 3,08-3,15 (m), 2,99-3,08 (m), 2,92-2,96 (m), 2,78-2,90 (m), 2,63-2,78 (m), 2,37-2,58 (m), 2,18-2,36 (m), 2,03-2,13 (m), 1,89-2,01 (m), 1,64-1,88 (m), 1,35-1,62 (m), 1,31-1,35 (m), 1,17-1,31 (m), 1,03-1,14 (m), 0,70-1,01 (m).
n.º 240	N,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-{{(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-{{(2 <i>S</i>)-1-oxo-3-fenil-1-[(1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-ilmetil]amino)propan-2-il]amino}propil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 798,2 [M+H ⁺] (0,66 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,43-8,49 (m), 7,50-7,53 (m), 7,42-7,48 (m), 7,06-7,20 (m), 4,21-4,83 (m), 3,95-4,13 (m), 3,76-3,88 (m), 3,53-3,67 (m), 3,16-3,47 (m), 3,08-3,15 (m), 3,00-3,16 (m), 2,77-2,90 (m), 2,70-2,73 (m), 2,62-2,69 (m), 2,45-2,58 (m), 2,34-2,41 (m), 2,21-2,29 (m), 2,12-2,21 (m), 1,55-2,09 (m), 1,39-1,54 (m), 1,16-1,36 (m), 1,04-1,14 (m), 0,85-0,99 (m), 0,73-0,80 (m), 0,00-0,02 (m).
n.º 241	N,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-{{(2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-{{(2 <i>S</i>)-1-oxo-3-fenil-1-(prop-2-in-1-ilamino)propan-2-il]amino}propil]pirrolidin-1-il}-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 755,1 [M+H ⁺] (0,69 minutos). RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,36-8,67 (m), 7,26-7,50 (m), 7,10-7,26 (m), 5,13-5,17 (m), 4,95-4,99 (m), 4,67-4,84 (m), 4,61-4,66 (m), 4,50-4,60 (m), 3,77-4,12 (m), 3,69-3,75 (m), 3,56-3,66 (m), 3,44-3,54 (m), 3,19-3,44 (m), 3,12-3,19 (m), 3,03-3,12 (m), 2,74-2,94 (m), 2,37-2,60 (m), 2,14-2,36 (m), 1,60-2,13 (m), 1,47-1,59 (m), 1,19-1,40 (m), 1,11-1,16 (m), 0,88-1,11 (m), 0,75-0,84 (m), 0,02-0,06 (m).

(Continuación)

Ejemplo	NOMBRE IUPAC	Espectro de masas: <i>m/z</i> de CL-EM o HPLC observado y tiempo de retención en minutos: RMN ¹ H (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) a menos que se indique otra cosa
n.º 242	N,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((2 <i>S</i>)-3-(1 <i>H</i> -imidazol-4-il)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 722,95 [M+H ⁺] (0,52 minutos); RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD) δ 8,78-8,86 (m), 8,71-8,73 (m), 7,96-8,00 (m), 7,34-7,40 (m), 4,74-4,91 (m), 4,67-4,71 (m), 4,55-4,63 (m), 4,13-4,22 (m), 4,04-4,10 (m), 3,97-4,01 (m), 3,84-3,92 (m), 3,66-3,82 (m), 3,42-3,64 (m), 3,26-3,42 (m), 3,11-3,21 (m), 2,90-2,92 (m), 2,83-2,84 (m), 2,59-2,64 (m), 2,48-2,56 (m), 2,32-2,41 (m), 2,09-2,24 (m), 1,99-2,08 (m), 1,68-1,95 (m), 1,59-1,66 (m), 1,51-1,58 (m), 1,35-1,45 (m), 1,22-1,26 (m), 1,17-1,21 (m), 0,95-1,12 (m), 0,83-0,89 (m).
n.º 243	N,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((2 <i>S</i>)-3-(4-hidroxifenil)-1-metoxi-1-oxopropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 748,2 [M+H ⁺] (0,52 minutos); RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD), δ 8,91-8,99 (m), 8,42-8,46 (m), 8,15-8,20 (m), 7,92-8,01 (m), 7,00-7,10 (m), 6,64-6,74 (m), 5,22-5,26 (m), 5,06-5,09 (m), 4,79-4,95 (m), 4,65-4,79 (m), 4,59-4,65 (m), 4,12-4,21 (m), 4,05-4,12 (m), 3,91-3,99 (m), 3,84-3,90 (m), 3,67-3,79 (m), 3,60-3,66 (m), 3,39-3,57 (m), 3,34-3,39 (m), 3,29-3,34 (m), 3,12-3,27 (m), 2,98-3,00 (m), 2,78-2,88 (m), 2,61-2,65 (m), 2,55-2,57 (m), 2,46-2,53 (m), 2,10-2,36 (m), 1,68-1,96 (m), 1,61-1,68 (m), 1,55-1,60 (m), 1,35-1,53 (m), 1,19-1,24 (m), 1,14-1,18 (m), 1,08-1,13 (m), 0,98-1,08 (m), 0,84-0,92 (m).
n.º 244	N,2-dimetilalanil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((1 <i>R</i>)-1-carboxi-2-feniletil]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q1): <i>m/z</i> 718,4 [M+H ⁺] (0,66 minutos); RMN ¹ H (400 MHz, CD ₃ OD), δ 7,87-7,92 (m), 7,71-7,76 (m), 7,46-7,53 (m), 7,40-7,46 (m), 7,19-7,33 (m), 4,81-4,96 (m), 4,68-4,77 (m), 4,60-4,65 (m), 4,47-4,53 (m), 4,01-4,17 (m), 3,94-3,98 (m), 3,81-3,86 (m), 3,68-3,76 (m), 3,56-3,64 (m), 3,40-3,50 (m), 3,36-3,40 (m), 3,26-3,35 (m), 3,23-3,26 (m), 3,16-3,22 (m), 3,12-3,16 (m), 2,94-3,06 (m), 2,91-2,93 (m), 2,86-2,88 (m), 2,41-2,66 (m), 2,32-2,41 (m), 1,97-2,23 (m), 1,85-1,97 (m), 1,71-1,85 (m), 1,62-1,68 (m), 1,50-1,61 (m), 1,37-1,46 (m), 0,98-1,14 (m), 0,85-0,92 (m).
n.º 245	1,2-dimetil-L-prolil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-3-metoxi-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-1-metoxi-2-metil-3-oxo-3-((2 <i>S</i>)-1-oxo-3-fenil-1-(piperazin-1-il)propan-2-il]amino)propil]pirrolidin-1-il]-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q): <i>m/z</i> 835,0 [M+Na ⁺] (0,87 minutos); RMN ¹ H δ 9,58-9,69 (m), 8,84-9,16 (m), 8,69-8,77 (m), 8,54-8,60 (m), 8,44-8,50 (m), 8,32-8,42 (m), 8,25-8,30 (m), 7,13-7,31 (m), 7,00-7,01 (m), 4,97-5,06 (m), 4,88-4,97 (m), 4,57-4,75 (m), 4,45-4,57 (m), 3,84-4,45 (m), 3,62-3,84 (m), 3,40-3,62 (m), 3,13-3,33 (m), 2,77-3,10 (m), 2,67-2,75 (m), 2,47-2,57 (m), 2,38-2,45 (m), 1,92-2,35 (m), 1,58-1,88 (m), 1,37-1,55 (m), 1,22-1,32 (m), 0,97-1,06 (m), 0,84-0,97 (m), 0,73-0,81 (m).
n.º 246	1,2-dimetil-L-prolil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-((2 <i>S</i>)-1-amino-3-fenilpropan-2-il]amino)-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	CL-EM (Protocolo Q): <i>m/z</i> 366,2 [M+H ⁺] (0,91 minutos); RMN ¹ H δ 9,56-9,65 (m), 8,70-8,76 (m), 8,05-8,09 (m), 7,77-7,92 (m), 7,14-7,30 (m), 4,60-4,72 (m), 4,46-4,57 (m), 3,61-4,39 (m), 3,41-3,61 (m), 3,11-3,33 (m), 2,97-3,09 (m), 2,79-2,94 (m), 2,63-2,74 (m), 2,38-2,56 (m), 2,13-2,37 (m), 1,93-2,13 (m), 1,45-1,89 (m), 1,21-1,32 (m), 1,09-1,14 (m), 1,03-1,08 (m), 0,84-0,95 (m), 0,73-0,80 (m).
n.º 247	2-metil-D-prolil- <i>N</i> -[(3 <i>R</i> ,4 <i>S</i> ,5 <i>S</i>)-1-((2 <i>S</i>)-2-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i>)-3-[[2-(ciclohepta-2,4,6-trien-1-il)etil]amino]-1-metoxi-2-metil-3-oxopropil]pirrolidin-1-il]-3-metoxi-5-metil-1-oxoheptan-4-il]- <i>N</i> -metil-L-valinamida	HPLC (Protocolo DB): <i>m/z</i> 700,51 [M+H ⁺] (2,56 minutos)

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Pfizer Inc.
Doroski, Matthew

<120> PÉPTIDOS CITOTÓXICOS Y CONGUJADOS DE ANTICUERPO FÁRMACO DE LOS MISMOS

5 <130> PC71886

<160> 26

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

10 <211> 106

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<220>

<221 > MISC_FEATURE

15 <222> (45)..(45)

<223> xaa en la posición 45 es Ala o Val

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (83)..(83)

<223> xaa en la posición 83 es Leu o Val

20 <400> 1

1	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln
				5						10					15	
	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr
				20					25					30		
	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Xaa	Leu	Gln	Ser
			35					40					45			
	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr
		50					55					60				
	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys
	65					70					75					80
	His	Lys	Xaa	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro
				85						90					95	
	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
				100					105							

<210> 2

<211> 106

<212> PRT

25 <213> Homo sapiens

<400> 2

ES 2 657 014 T3

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Val Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

<210> 3
<211> 106
<212> PRT
<213> Homo sapiens

5

<400> 3

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1 5 10 15

Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20 25 30

Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35 40 45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50 55 60

Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65 70 75 80

His Lys Leu Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85 90 95

Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100 105

ES 2 657 014 T3

<210> 4
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5 <400> 4

Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln
1				5					10					15	
Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr
			20					25					30		
Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser
		35					40					45			
Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr
	50					55					60				
Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys
65					70					75					80
His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro
				85					90					95	
Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys						
			100					105							

<210> 5
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Secuencia de péptido sintético
 <400> 5

ES 2 657 014 T3

Glu Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
 20 25 30

Tyr Gly Ser Pro Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly
 85 90 95

Thr His Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

<210> 6

<211> 118

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 6

ES 2 657 014 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30

Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ser Glu Ile Arg Leu Arg Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95

Tyr Cys Lys Thr Tyr Phe Tyr Ser Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 7

<211> 219

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 7

ES 2 657 014 T3

Glu Leu Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Thr
 20 25 30
 Tyr Gly Ser Pro Tyr Leu Asn Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45
 Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60
 Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile
 65 70 75 80
 Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Phe Cys Ser Gln Gly
 85 90 95
 Thr His Leu Pro Tyr Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110
 Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125
 Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140
 Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160
 Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175
 Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 8
 <211> 448
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de péptido sintético
 <400> 8

ES 2 657 014 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Trp Met Ser Trp Val Arg Gln Ser Pro Glu Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ser Glu Ile Arg Leu Arg Ser Asp Asn Tyr Ala Thr His Tyr Ala Glu
 50 55 60
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 65 70 75 80
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Gly Ile Tyr
 85 90 95
 Tyr Cys Lys Thr Tyr Phe Tyr Ser Phe Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 100 105 110
 Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro
 115 120 125
 Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly
 130 135 140
 Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn
 145 150 155 160
 Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln
 165 170 175
 Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser
 180 185 190
 Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser
 195 200 205
 Asn Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr
 210 215 220
 His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser
 225 230 235 240

ES 2 657 014 T3

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255

Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270

Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val
 290 295 300

Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320

Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335

Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350

Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365

Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp
 385 390 395 400

Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415

Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430

Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 435 440 445

<210> 9
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de péptido sintético
 <400> 9

ES 2 657 014 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
 20 25 30
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gln Gly Thr Thr Ala Leu Ala Thr Arg Phe Phe Asp Val Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 10
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de péptido sintético

<400> 10

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Ser Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ser Ala Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

10

<210> 11
 <211> 452
 <212> PRT

ES 2 657 014 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 11

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1                5                10                15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Arg Asn
20                25                30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35                40                45

Ala Thr Val Ser Ser Gly Gly Ser Tyr Ile Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50                55                60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
65                70                75                80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85                90                95

Ala Arg Gln Gly Thr Thr Ala Leu Ala Thr Arg Phe Phe Asp Val Trp
100               105               110

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
115               120               125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
130               135               140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
145               150               155               160

Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
165               170               175

Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

```

5

ES 2 657 014 T3

```

                180                          185                          190

Val  Pro  Ser  Ser  Ser  Leu  Gly  Thr  Gln  Thr  Tyr  Ile  Cys  Asn  Val  Asn
                195                          200                          205

His  Lys  Pro  Ser  Asn  Thr  Lys  Val  Asp  Lys  Lys  Val  Glu  Pro  Lys  Ser
                210                          215                          220

Cys  Asp  Lys  Thr  His  Thr  Cys  Pro  Pro  Cys  Pro  Ala  Pro  Glu  Leu  Leu
                225                          230                          235

Gly  Gly  Pro  Ser  Val  Phe  Leu  Phe  Pro  Pro  Lys  Pro  Lys  Asp  Thr  Leu
                245                          250                          255

Met  Ile  Ser  Arg  Thr  Pro  Glu  Val  Thr  Cys  Val  Val  Val  Asp  Val  Ser
                260                          265                          270

His  Glu  Asp  Pro  Glu  Val  Lys  Phe  Asn  Trp  Tyr  Val  Asp  Gly  Val  Glu
                275                          280                          285

Val  His  Asn  Ala  Lys  Thr  Lys  Pro  Arg  Glu  Glu  Gln  Tyr  Asn  Ser  Thr
                290                          295                          300

Tyr  Arg  Val  Val  Ser  Val  Leu  Thr  Val  Leu  His  Gln  Asp  Trp  Leu  Asn
                305                          310                          315

Gly  Lys  Glu  Tyr  Lys  Cys  Lys  Val  Ser  Asn  Lys  Ala  Leu  Pro  Ala  Pro
                325                          330                          335

Ile  Glu  Lys  Thr  Ile  Ser  Lys  Ala  Lys  Gly  Gln  Pro  Arg  Glu  Pro  Gln
                340                          345                          350

Val  Tyr  Thr  Leu  Pro  Pro  Ser  Arg  Glu  Glu  Met  Thr  Lys  Asn  Gln  Val
                355                          360                          365

Ser  Leu  Thr  Cys  Leu  Val  Lys  Gly  Phe  Tyr  Pro  Ser  Asp  Ile  Ala  Val
                370                          375                          380

Glu  Trp  Glu  Ser  Asn  Gly  Gln  Pro  Glu  Asn  Asn  Tyr  Lys  Thr  Thr  Pro
                385                          390                          395

Pro  Val  Leu  Asp  Ser  Asp  Gly  Ser  Phe  Phe  Leu  Tyr  Ser  Lys  Leu  Thr
                405                          410                          415

Val  Asp  Lys  Ser  Arg  Trp  Gln  Gln  Gly  Asn  Val  Phe  Ser  Cys  Ser  Val
                420                          425                          430

```

ES 2 657 014 T3

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Cys
435 440 445

Ser Pro Gly Lys
450

- 5
- <210> 12
 - <211> 213
 - <212> PRT
 - <213> Secuencia artificial

 - <220>
 - <223> Secuencia de péptido sintético

 - <400> 12

ES 2 657 014 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val Gly Thr Ala
 20 25 30
 Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Ser Ala Ser Tyr Arg Ser Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His His Tyr Ser Ala Pro Trp
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 13

<211> 1356

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Secuencia de nucleótido sintético

<400> 13

ES 2 657 014 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc tctgagactg 60
tcttgtgccg cctccggcct caccttcagt aggaatggca tgtcttgggt gaggcaggcc 120
cctggcaagg gcctggagtg ggtggccacc gttagtagtg gtggtagtta catctactat 180
gcagacagtg tgaaggggcg gttcaccatc tccagggaca acgccaagaa ctccctgtac 240
ctccagatga actccctgag ggccgaggat accgccgtgt actactgtgc cagacaaggg 300
actacggcac tagctacgag gttcttcgat gtctggggcc agggcaccct ggtgaccgtg 360
tcctctgcgt cgaccaaggg cccatcggtc ttccccctgg caccctcctc caagagcacc 420
tctgggggca cagcggccct gggctgcctg gtcaaggact acttccccga accggtgacg 480
gtgtcgtgga actcagggcg cctgaccagc ggcgtgcaca cttccccggc tgtcctacag 540
tcctcaggac tctactccct cagcagcgtg gtgaccgtgc cctccagcag cttgggcacc 600
cagacctaca tctgcaacgt gaatcacaag cccagcaaca ccaaggtgga caagaaagt 660
gagcccaaat cttgtgacaa aactcacaca tggccaccgt gcccagcacc tgaactcctg 720
gggggaccgt cagtcttcct cttcccccca aaaccaagg acaccctcat gatctcccg 780
accctgagg tcacatgcgt ggtggtggac gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc 840
aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat aatgccaaga caaagcccg gaggagcag 900
tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat 960
ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc 1020
atctccaaag ccaagggca gccccgagaa ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg 1080
gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc 1140
gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg cagccggaga acaactaaa gaccacgcct 1200
cccgtgctgg actccgacgg ctcttcttc ctctatagca agctcaccgt ggacaagagc 1260
aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac 1320

tacacgcaga agagcctctc cctgtccccg ggtaaa 1356

<210> 14

<211> 639

<212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótido sintético

<400> 14

5

ES 2 657 014 T3

gacatccaga tgaccagtc cccctcttct ctgtctgcct ctgtgggcga cagagtgacc 60
 atcacctgta aggccagtc g gatgtaggt actgctgtag cctggtatca gcagaagcct 120
 ggcaaggctc ccaagctgct gatctactcg gcacccctacc ggtccactgg cgtgccttcc 180
 agattctccg gctctggctc tggcaccgat ttcaccctga ccatctctc cctccagcct 240
 gaggatttcg ccaccta ta ctgccagcac cattatagtg ctccgtggac gtttggcggc 300
 ggaacaaagg tggagatcaa gactgtggct gcaccatctg tcttcatctt cccgccatct 360
 gatgagcagt tgaaatctgg aactgcctct gttgtgtgcc tgctgaataa cttctatccc 420
 agagaggcca aagtacagtg gaaggtggat aacgccctcc aatcgggtaa ctcccaggag 480
 agtgtcacag agcaggacag caaggacagc acctacagcc tcagcagcac cctgacgctg 540
 agcaaagcag actacgagaa acacaaagtc tacgcctgcg aagtcaccca tcagggcctg 600
 agctcgcccg tcacaaagag cttcaacagg ggagagtgt 639

<210> 15

<211> 117

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 15

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30

Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ala Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Gly Pro Phe Val Leu Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
 115

10

ES 2 657 014 T3

<210> 16
 <211> 446
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de péptido sintético

<400> 16

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Arg Asp Tyr
 20 25 30

Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Tyr Ile Ser Ser Gly Ser Asn Tyr Ile Tyr Tyr Ala Glu Ala Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Arg Gly Pro Phe Val Leu Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

ES 2 657 014 T3

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val
225 230 235 240

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr
245 250 255

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu
260 265 270

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys
275 280 285

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser
290 295 300

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys
305 310 315 320

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile
325 330 335

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro
340 345 350

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu
355 360 365

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn
370 375 380

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser
385 390 395 400

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg

ES 2 657 014 T3

405

410

415

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu
420 425 430

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
435 440 445

<210> 17

<211> 1338

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótido sintético

<400> 17

ES 2 657 014 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc	60
tcctgtgcag cctctggatt cactttcagc gactatggaa tgacctgggt ccgccaggct	120
ccaggaagg ggctggagt ggtggcctat attagtagtg gtagcaatta catctattat	180
gcagaagcgg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat	240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagacgaggc	300
ccgtttgttt tggatgcctg gggccaggga accctggca ccgtctcctc agcgtcgacc	360
aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac	540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt	660
gacaaaactc acacatgccc accgtgcccga gcacctgaac tcctgggggg accgtcagtc	720
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca	780
tgcgtgggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac	840
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac	900
cgtgtgggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag	960
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacatctc caaagccaaa	1020
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag	1080
aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag	1140
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc	1200
gacggctcct tcttctctta tagcaagctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg	1260
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc	1320
ctctccctgt ccccggt	1338

<210> 18

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 18

5

ES 2 657 014 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile Asn Arg Tyr
 20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Asn Ala Asn Gly Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Thr Trp Pro Asp
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 19

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 19

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Ser Ile Asn Arg Tyr
 20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

ES 2 657 014 T3

Tyr Asn Ala Asn Gly Leu Gln Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln His Asn Thr Trp Pro Asp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210

<210> 20

<211> 642

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de nucleótido sintético

<400> 20

ES 2 657 014 T3

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
 atcacttgca aagcaagtc gagtattaac aggtacttac actggtatca gcagaaacca 120
 gggaaagccc ctaagctcct gatctataat gcaaacgggt tgcaaacggg ggtcccatca 180
 aggttcagtg gcagtgatc tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct 240
 gaagattttg caacttacta ctgtttgcag cataatacgt ggccggacac gtttgccgga 300
 gggaccaagg tggagatcaa acggaccgtg gccgctcctt ccgtgttcat cttccccct 360
 tccgacgagc agctgaagtc tggcaccgcc tctgtggtgt gtctgtgaa caacttctac 420
 ccccgggagg ccaaggtgca gtggaaggtg gacaacgctc tgcagtccgg caactccag 480
 gagtctgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc taccctgacc 540
 ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc 600
 ctgtcctctc ctgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc 642

<210> 21

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

5

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 21

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30

Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45

Ala Glu Ile Ser Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Glu Ile Arg Tyr Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115

<210> 22
<211> 448
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

5

<220>
<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 22

ES 2 657 014 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asp Tyr
 20 25 30
 Trp Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Glu Ile Ser Pro Asn Ser Gly Gly Thr Asn Phe Asn Glu Lys Phe
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Val Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Glu Ile Arg Tyr Asn Trp Phe Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
 100 105 110
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe
 115 120 125
 Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu
 130 135 140
 Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp
 145 150 155 160
 Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu
 165 170 175
 Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser
 180 185 190
 Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro
 195 200 205
 Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys
 210 215 220
 Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro
 225 230 235 240

ES 2 657 014 T3

Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser
 245 250 255

Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp
 260 265 270

Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn
 275 280 285

Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val
 290 295 300

Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu
 305 310 315 320

Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys
 325 330 335

Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr
 340 345 350

Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr
 355 360 365

Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu
 370 375 380

Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu
 385 390 395 400

Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys
 405 410 415

Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu
 420 425 430

Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 435 440 445

<210> 23
 <211> 1344
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial

5

<220>
 <223> Secuencia de nucleótido sintético

<400> 23

ES 2 657 014 T3

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctggggggtc cctgagactc 60

tcctgtgcag cctctggtta tgcattcact gactactgga tgacctgggt ccgccaggct 120

ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccgaa atttctccta acagtgggtg tactaacttc 180

aatgaaaagt tcaagggccg attcaccatc tccgttgaca acgccaagaa ctcaactgtat 240

ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagaggggaa 300

atccgttaca attggtttgc ttactggggc cagggaaacc tggtcaccgt ctccctcagcg 360

tcgaccaagg gcccatcggg cttccccctg gcaccctcct ccaagagcac ctctgggggc 420

acagcggccc tgggctgcct ggtcaaggac tacttccccg aaccggtgac ggtgtcgtgg 480

aactcaggcg ccctgaccag cggcgtgcac accttccccg ctgtcctaca gtcctcagga 540

ctctactccc tcagcagcgt ggtgaccgtg ccctccagca gcttgggcac ccagacctac 600

atctgcaacg tgaatcacia gccagcaac accaaggtgg acaagaaagt tgagcccaaa 660

tcttgtgaca aaactcacac atgcccaccg tgcccagcac ctgaactcct ggggggaccg 720

tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca tgatctcccc gaccctgag 780

gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg aggtcaagtt caactggtac 840

gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc gggaggagca gtacaacagc 900

acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg actggctgaa tggcaaggag 960

tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagcccca tcgagaaaac catctccaaa 1020

gccaaagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccc ggaggagatg 1080

accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1140

gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1200

gactccgacg gtccttctt cctctatagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag 1260

caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1320

aagagcctct ccctgtcccc ggggt 1344

<210> 24

<211> 107

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 24

5

ES 2 657 014 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Asn Asn
 20 25 30

Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Leu Tyr Asn Ser Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105

<210> 25

<211> 214

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de péptido sintético

<400> 25

ES 2 657 014 T3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asn Val Gly Asn Asn
 20 25 30

Ile Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Tyr Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Tyr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Arg Leu Tyr Asn Ser Pro Phe
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110

Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125

Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190

Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 26
 <211> 642
 <212> ADN
 <213> Secuencia artificial
 <220>

ES 2 657 014 T3

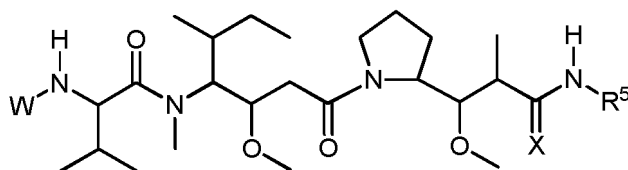
<223> Secuencia de nucleótido sintético

<400> 26

gacatccaga tgacccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc	60
atcacttgca aggccagtca gaatgtgggt aataatatag cctgggatca gcagaaacca	120
gggaaagccc ctaagctcct gatctattat gcatctaacc ggtacactgg ggtcccatca	180
aggttcagtg gcagtgata tgggacagat ttcactctca ccatcagcag tctgcaacct	240
gaagattttg caacttacta ctgtcagcgt ctttacaatt ctccattcac gttcggcgga	300
gggaccaagg tggagatcaa acggaccgtg gccgctcctt ccgtgttcat cttccccct	360
tccgacgagc agctgaagtc tggcaccgcc tctgtggtgt gtctgctgaa caacttctac	420
ccccgggagg ccaaggtgca gtggaagggtg gacaacgctc tgcagtccgg caactcccag	480
gagtctgtga ccgagcagga ctccaaggac agcacctact ccctgtcctc taccctgacc	540
ctgtccaagg ccgactacga gaagcacaag gtgtacgcct gtgaggtgac ccaccagggc	600
ctgtcctctc ctgtgaccaa gtccttcaac cggggcgagt gc	642

REIVINDICACIONES

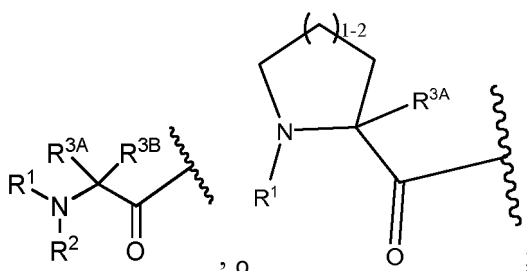
1. Un compuesto de fórmula I:



I

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

5 W es

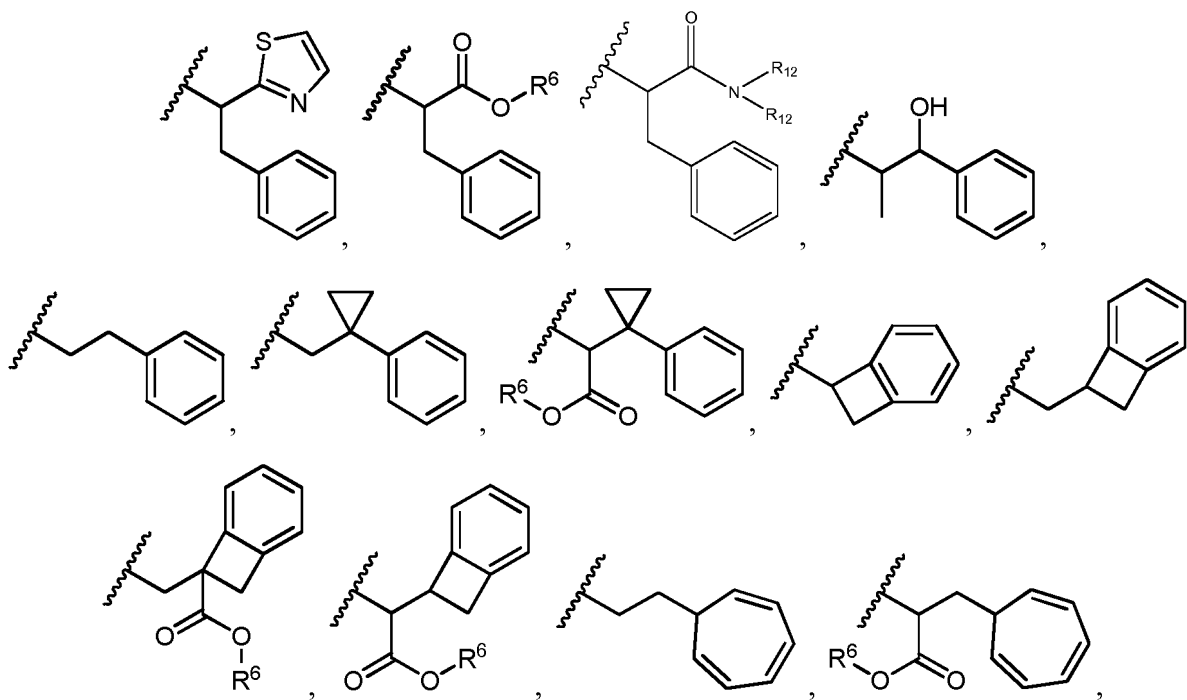


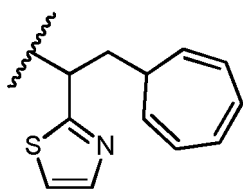
R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

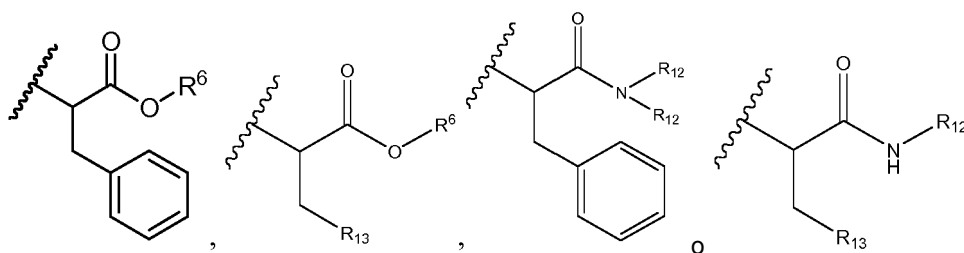
- 10 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbocíclico C₃-C₈ o halógeno; y
 R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbocíclico C₃-C₈ o halógeno; o
 (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alquilenos C₂-C₈, alquilenos C₂-C₈ que cuando se toma junto con el
 15 carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquilenos C₁-C₈,
 heteroalquilenos C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;
 R⁵ es





5

heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀; o
R⁵ es



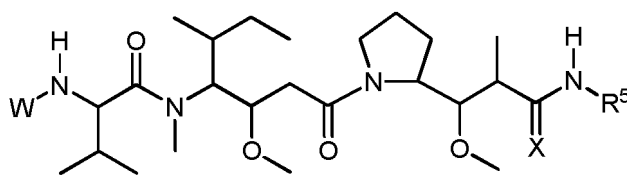
10

opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;
R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;
R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;
R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y
X es O.

15

20

2. Un compuesto de fórmula **IIa**:

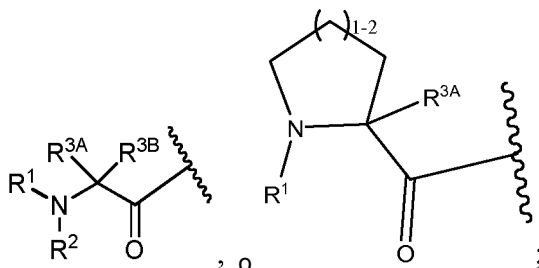


IIa

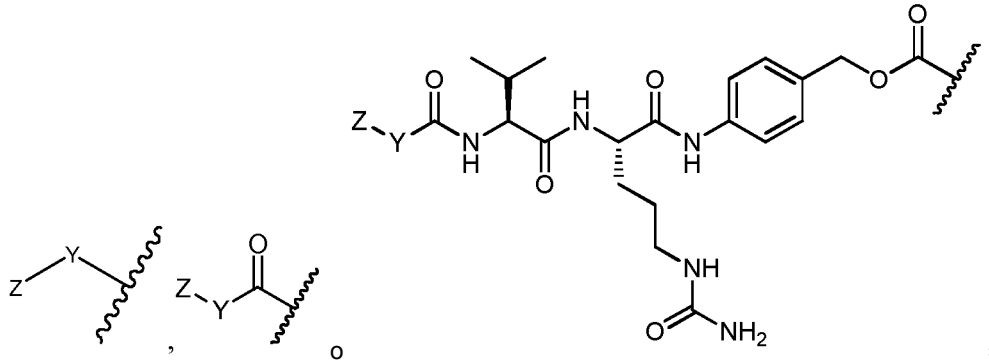
o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

25

W es

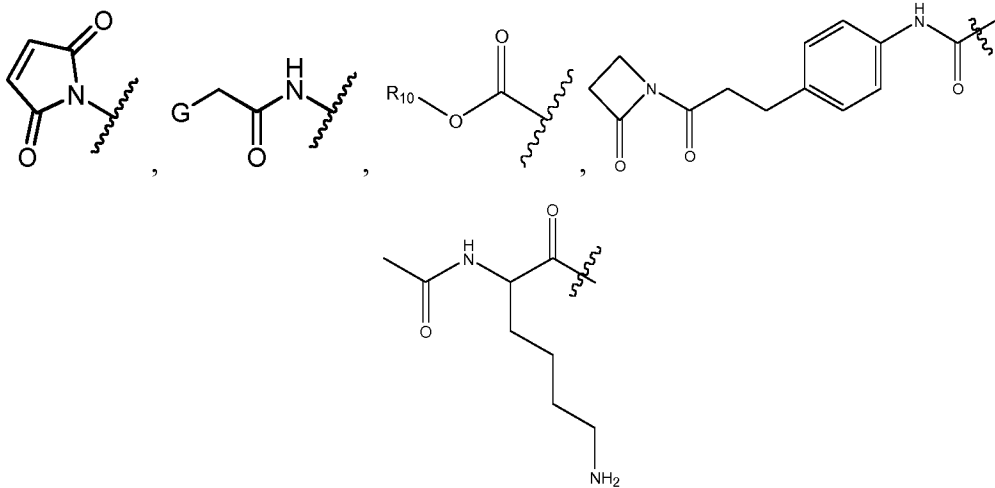


R¹ es



5

Y es -alquilenos C₂-C₂₀-, -heteroalquilenos C₂-C₂₀-, -carbociclos C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclos C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclos C₃-C₈)-, -(carbociclos C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclos C₃-C₈)- o -(heterociclos C₃-C₈)-alquilenos C₁-C₁₀-;
Z es

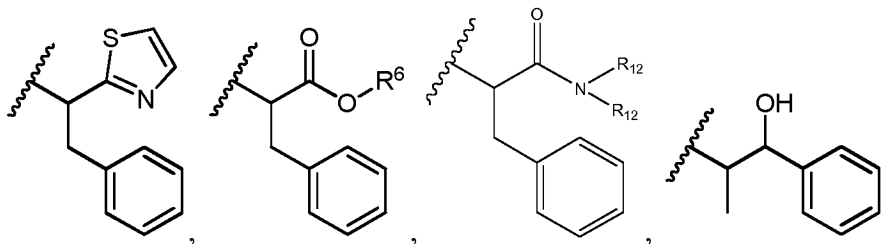


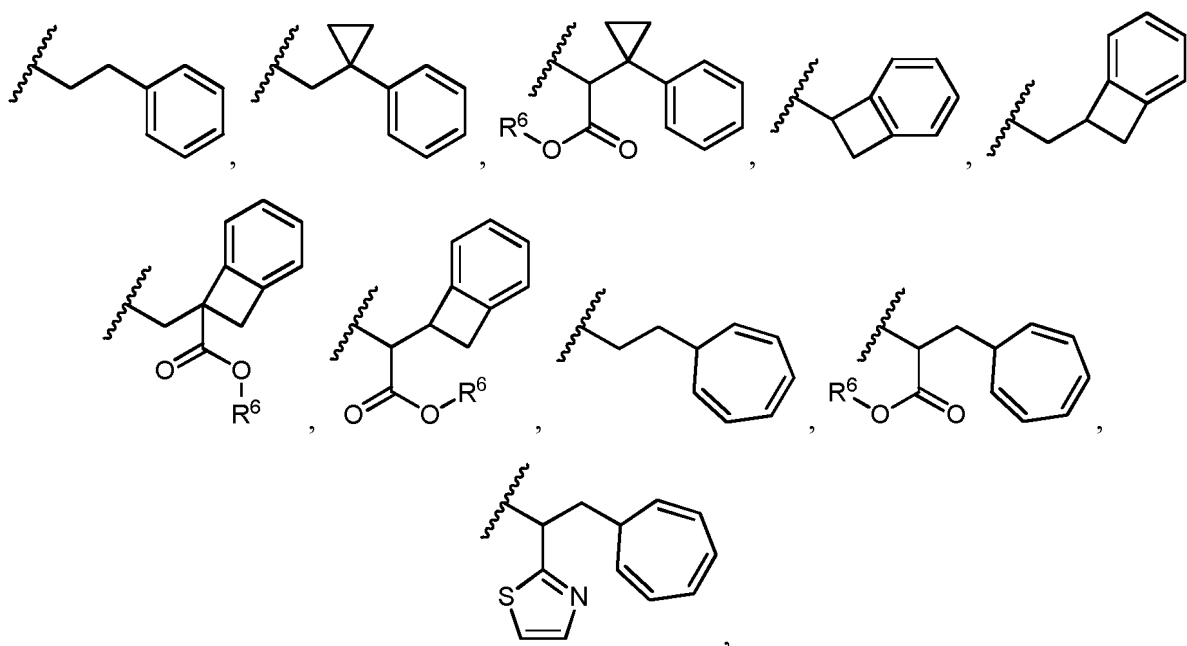
10

o -NH₂;
G es halógeno, -OH, -SH o -S-alquilo C₁-C₆;
R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

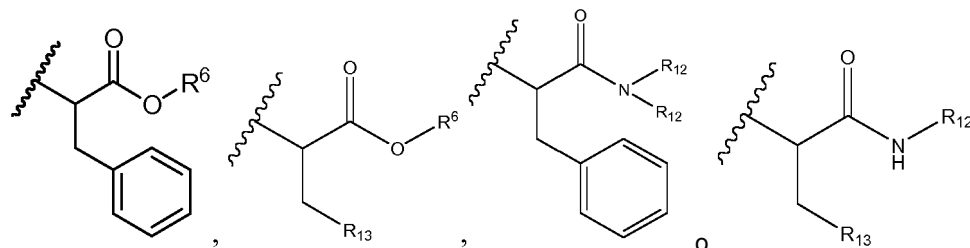
15

(i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o
(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alquilenos C₂-C₈, alquilenos C₂-C₈ que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquilenos C₁-C₈, heteroalquilenos C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;
R⁵ es





5 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR' -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀; o R⁵ es



15 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

20 R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;

R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;

R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y

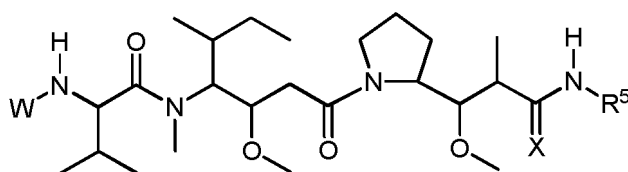
R⁷ se selecciona independientemente cada vez que aparece entre el grupo que consiste en F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;

25 R¹⁰ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₁₀, -carbociclilo C₃-C₈, arilo, -heteroalquilo C₁-C₁₀, -heterociclo C₃-C₈, -alquilen C₁-C₁₀-arilo, -arileno-alquilo C₁-C₁₀, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈), -(carbociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈) y -(heterociclo C₃-C₈)-alquilo C₁-C₁₀, en el que el arilo en los R₁₀ que comprenden arilo está opcionalmente sustituido con [R₇]_h;

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

X es O.

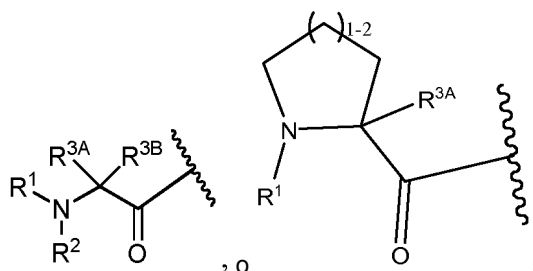
30 3. Un compuesto de fórmula IIIa:



IIIa

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

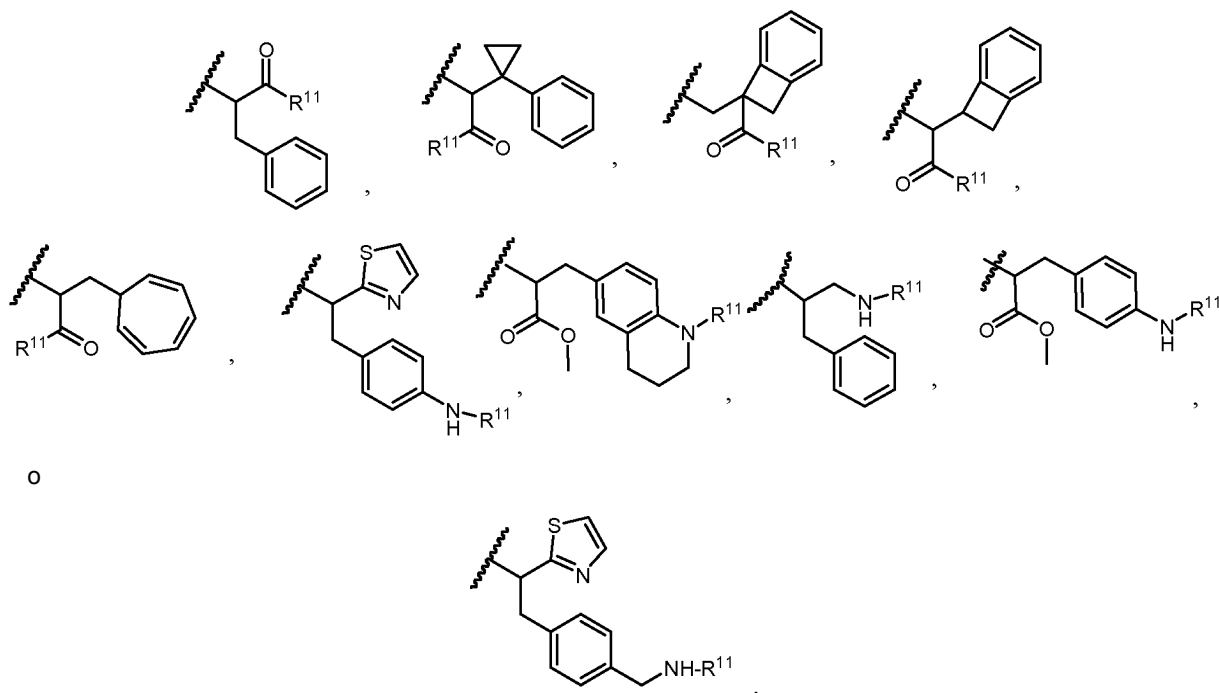
W es



- 5 R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

- 10 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y
 R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o
 (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alquileno C₂-C₈, alquileno C₂-C₈ que cuando se toma junto con el
 carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquileno C₁-C₈,
 heteroalquileno C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

R⁵ es



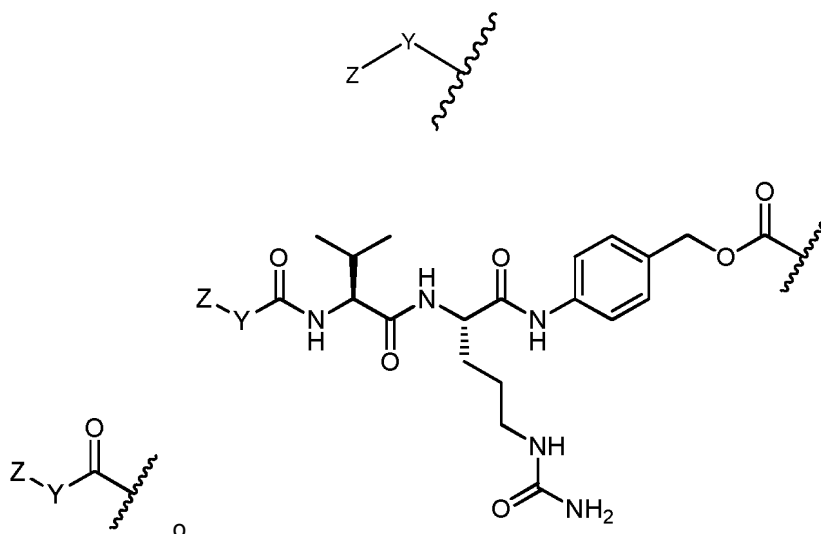
15

o

20

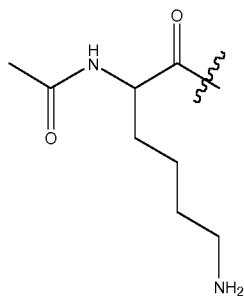
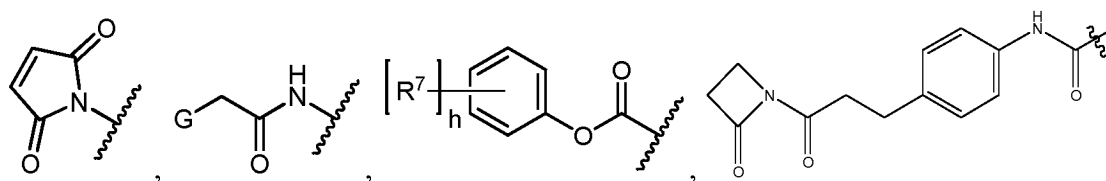
opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste
 en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -
 NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -
 S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno,
 alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido;

R¹¹ es



- 5 Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-;

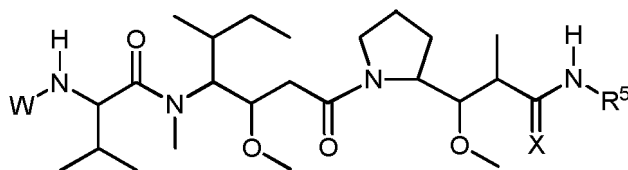
Z es



- 10 o -NH₂;
G es halógeno, -OH, -SH o -S-alquilo C₁-C₆;
R⁷ se selecciona independientemente cada vez que aparece entre el grupo que consiste en F, Cl, I, Br, NO₂, CN y CF₃;

h es 1, 2, 3, 4 o 5; y
X es O.

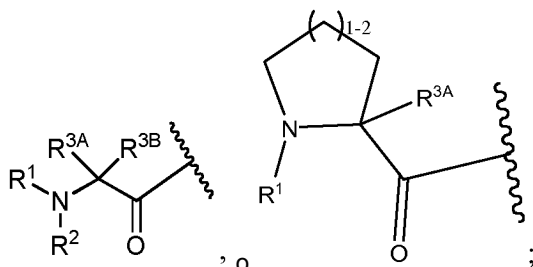
- 15 4. Un compuesto de fórmula **IIb**:



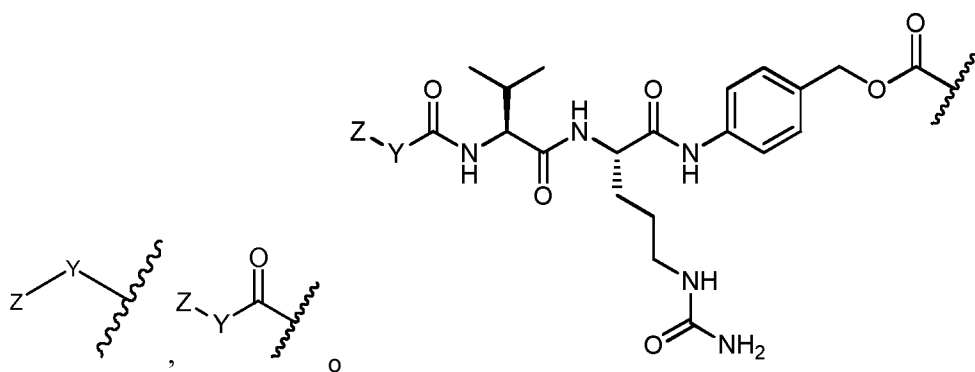
IIb

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

W es



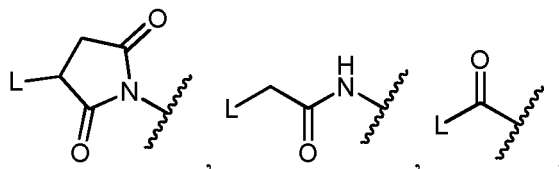
R¹ es



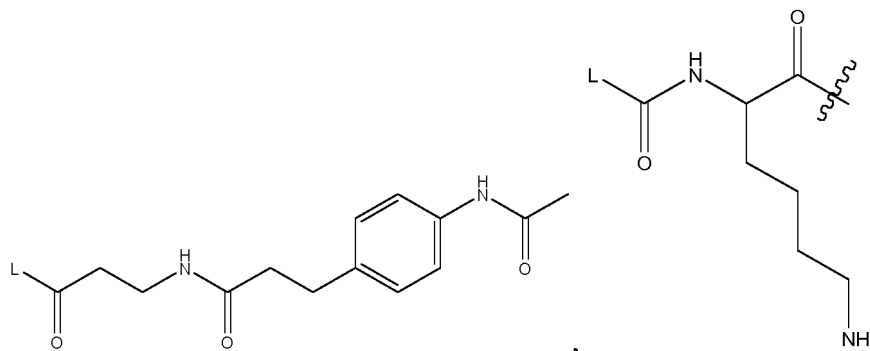
5

Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₆-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-;

Z es



10



o -NHL;

L es un anticuerpo;

R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;

15

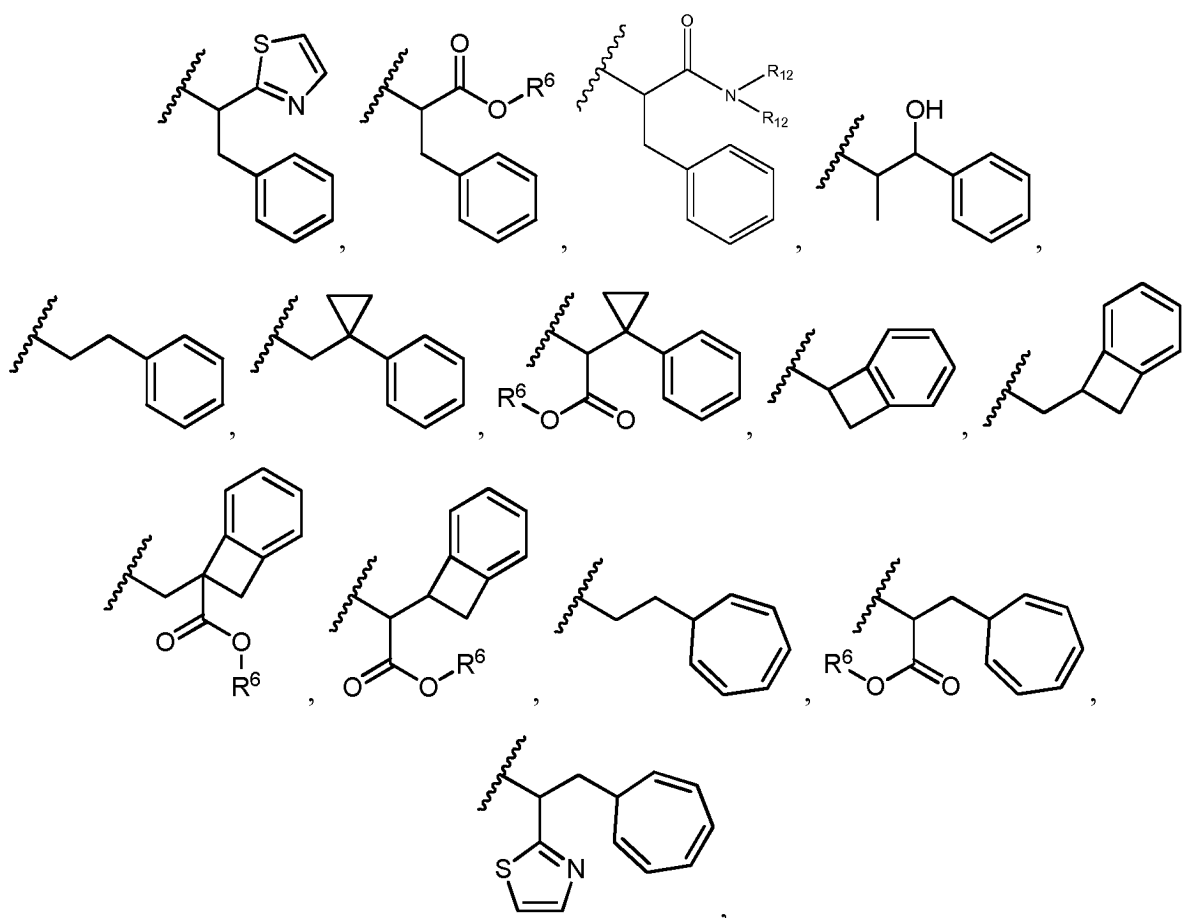
R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

(i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbocicilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbocicilo C₃-C₈ o halógeno; o

(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alquileo C₂-C₈, alquileo C₂-C₈ que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquileo C₁-C₈, heteroalquileo C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

20

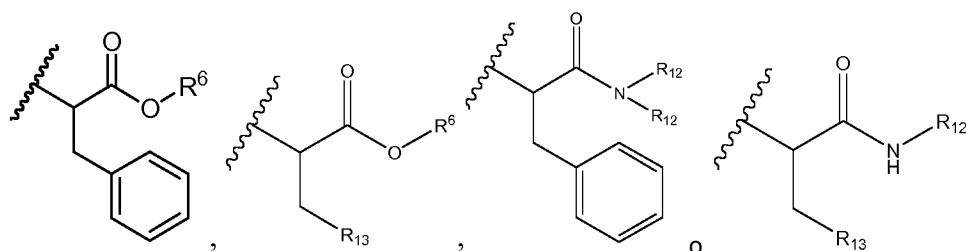
R⁵ es



5 heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

10

o R⁵ es



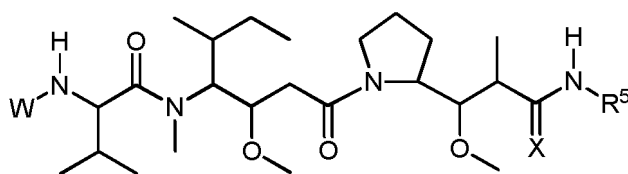
15

opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

20

R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;
 R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;
 R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y
 X es O.

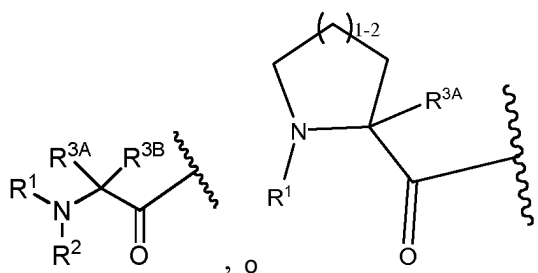
5. Un compuesto de fórmula **IIIb**:



IIIb

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

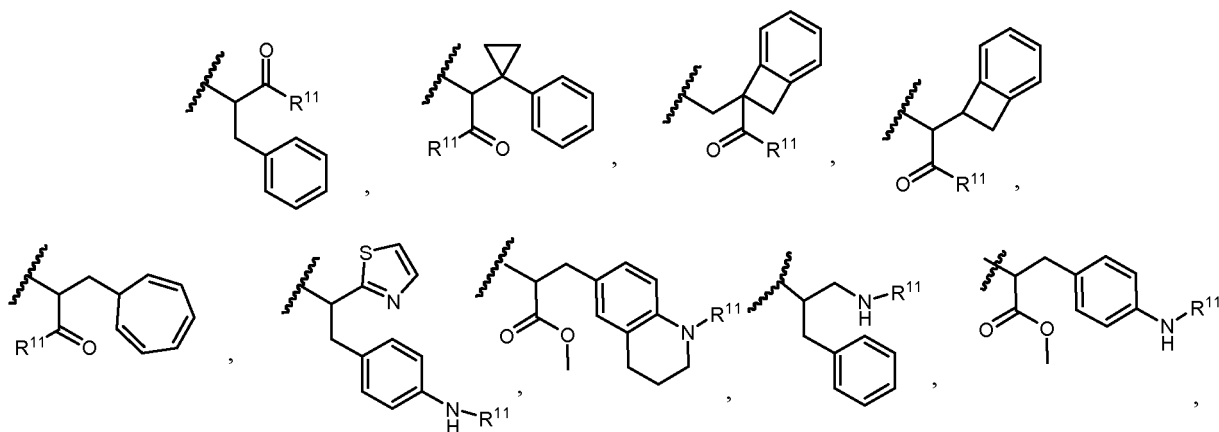
W es



5 R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

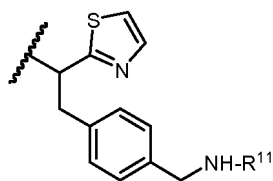
10 (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbocíclico C₃-C₈ o halógeno; y
R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbocíclico C₃-C₈ o halógeno; o
(ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alquileno C₂-C₈, alquileno C₂-C₈ que cuando se toma junto con el
carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquileno C₁-C₈,
heteroalquileno C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

R⁵ es



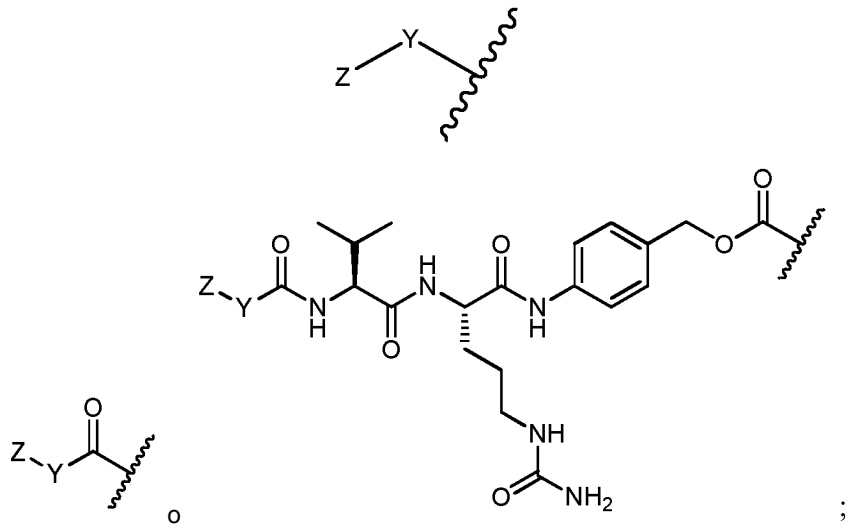
15

o

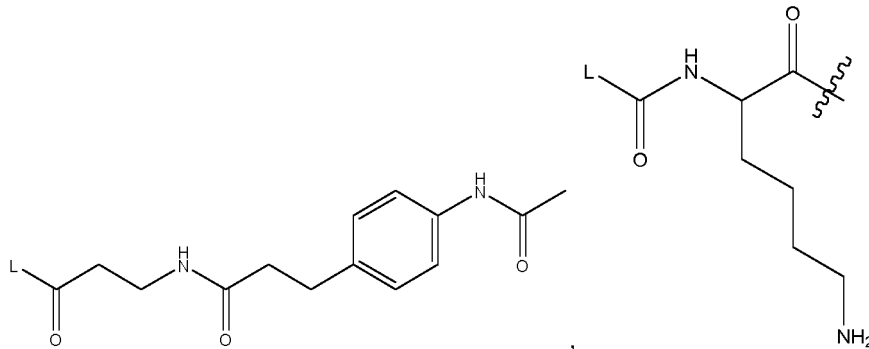
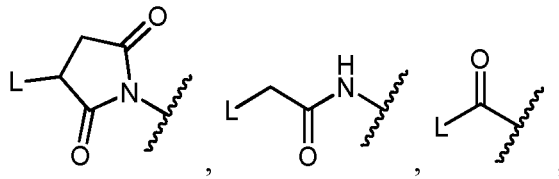


20 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no

sustituido;
R¹¹ es



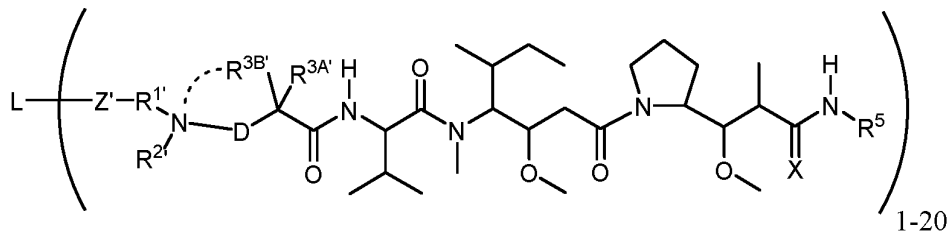
5 Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-;
Z es



10

o -NHL;
L es un anticuerpo;
X es O.

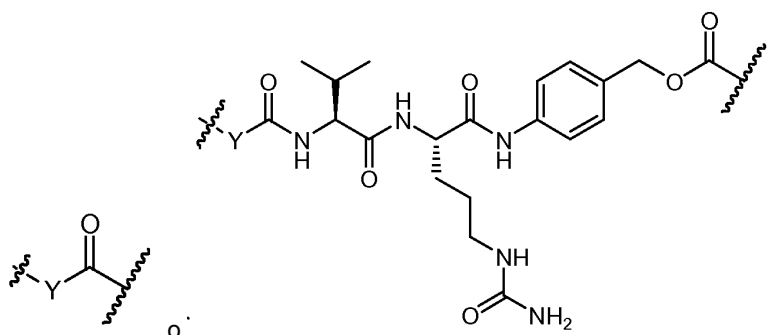
6. Un compuesto de fórmula **IIc**:



IIc

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

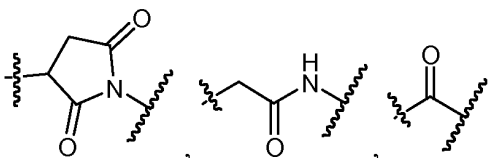
R^{1'} es



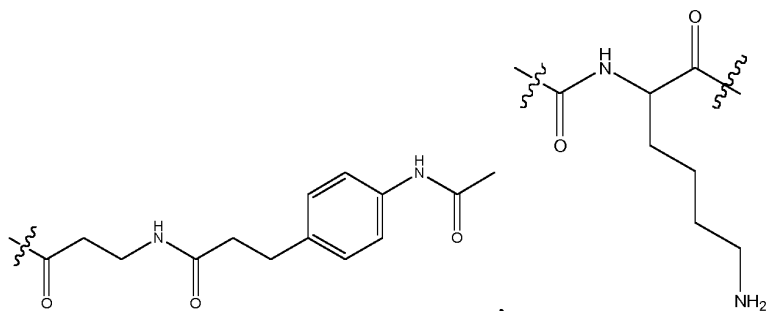
5

Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquilen C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquilen C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquilen C₁-C₁₀-;

Z' es



10



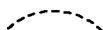
o -NH-;

L es un anticuerpo;

D está ausente;

15

R^{2'} es hidrógeno, alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, o está ausente si



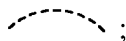
está presente;

R^{3A'} y R^{3B'} son cualquiera de los siguientes:

20

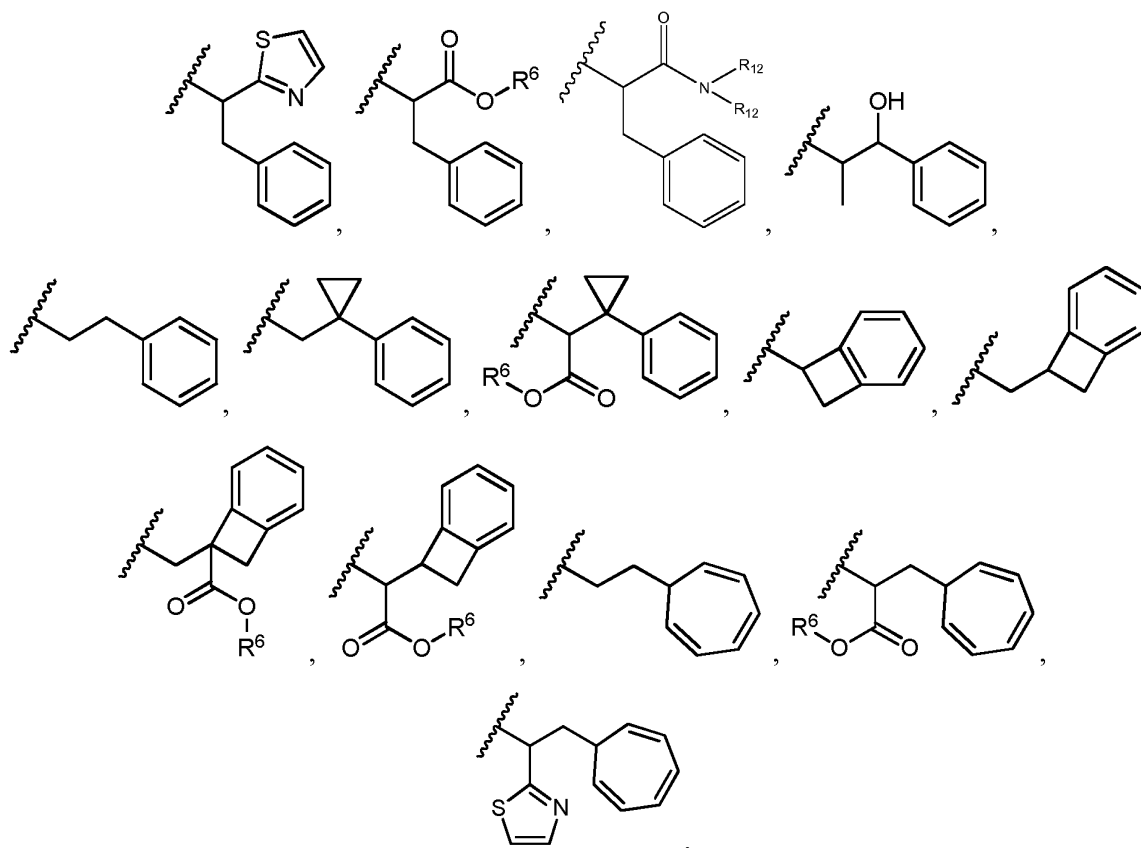
(i) R^{3A'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno, o R^{3B'} es alquileo C₂-C₄ y forma un

anillo saturado de 5 a 6 miembros según se indica mediante



o

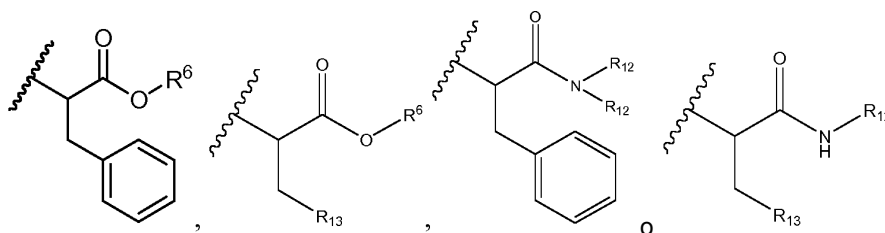
- 5 (ii) $R^{3A'}$ y $R^{3B'}$ tomados juntos son bien alquileo C_2-C_8 , alquileo C_2-C_8 que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquileo C_1-C_8 , heteroalquileo C_1-C_8 que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado; R^5 es



10

15

heterociclilo C_1-C_{10} , carbociclilo C_3-C_8 y arilo C_6-C_{14} opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C_1-C_8 , -alquil $C_1-C_8-N(R')_2$, -alquil $C_1-C_8-C(O)R'$, -alquil $C_1-C_8-C(O)OR'$, -O-(alquilo C_1-C_8), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_1-C_8 y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C_1-C_{10} ; o R^5 es



20

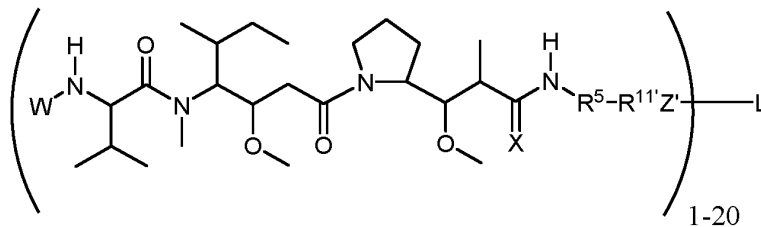
25

opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C_1-C_8 , -alquil $C_1-C_8-N(R')_2$, -alquil $C_1-C_8-C(O)R'$, -alquil $C_1-C_8-C(O)OR'$, -O-(alquilo C_1-C_8), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_1-C_8 , heterociclilo C_1-C_8 , alquilen C_1-C_{10} -heterociclilo C_3-C_8 y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar

un heterociclilo C₁-C₁₀;
 R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquino C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;
 R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;
 R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y
 X es O.

5

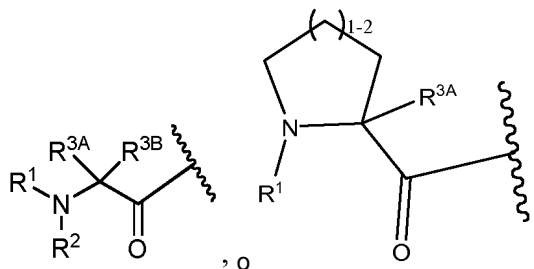
7. Un compuesto de fórmula IIIc:



IIIc

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

W es



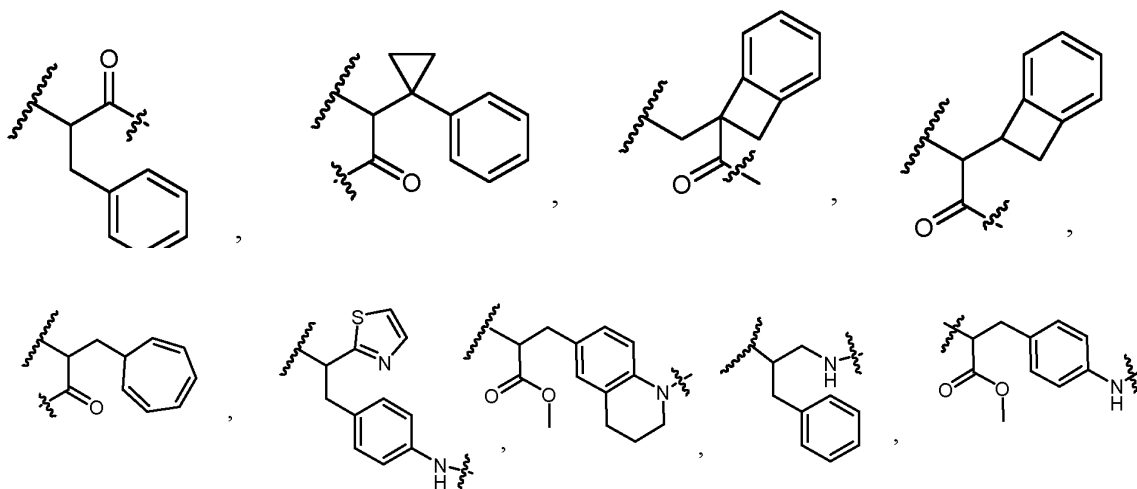
10

R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

15

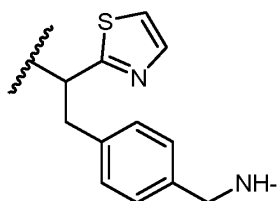
(i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y
 R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o
 (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alqueno C₂-C₈, alqueno C₂-C₈ que cuando se toma junto con el
 carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalqueno C₁-C₈,
 heteroalqueno C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

R⁵ es

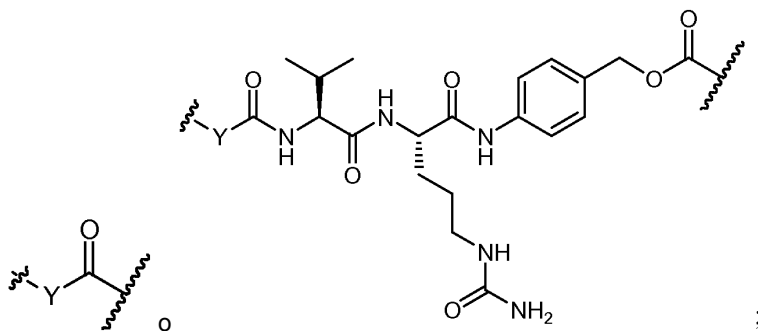


20

0

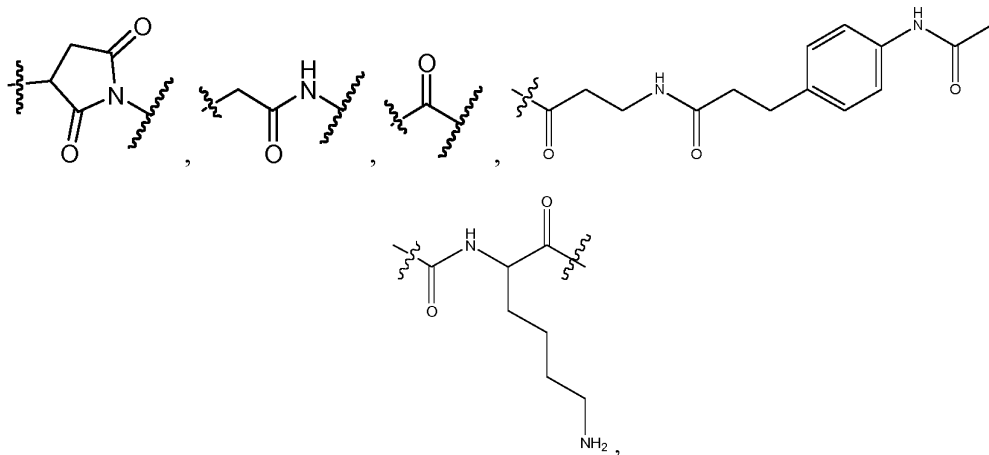


5 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido; R^{11'} es



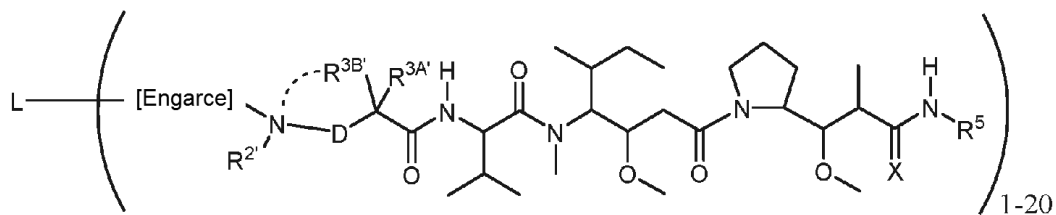
10 Y es -alquileo C₂-C₂₀-, -heteroalquileo C₂-C₂₀-, -carbociclo C₃-C₈-, -arileno-, -heterociclo C₃-C₈-, -alquilen C₁-C₁₀-arileno-, -arileno-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(carbociclo C₃-C₈)-, -(carbociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-, -alquilen C₁-C₁₀-(heterociclo C₃-C₈)- o -(heterociclo C₃-C₈)-alquileo C₁-C₁₀-;

Z' es



15 o -NH-;
L es un anticuerpo;
X es O.

8. Un compuesto de fórmula **IId**:

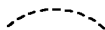


IId

o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece,

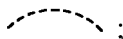
L es un anticuerpo;
[engarce] es un engarce divalente;
D está ausente;

5 R^{2'} es hidrógeno, alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, o está ausente si



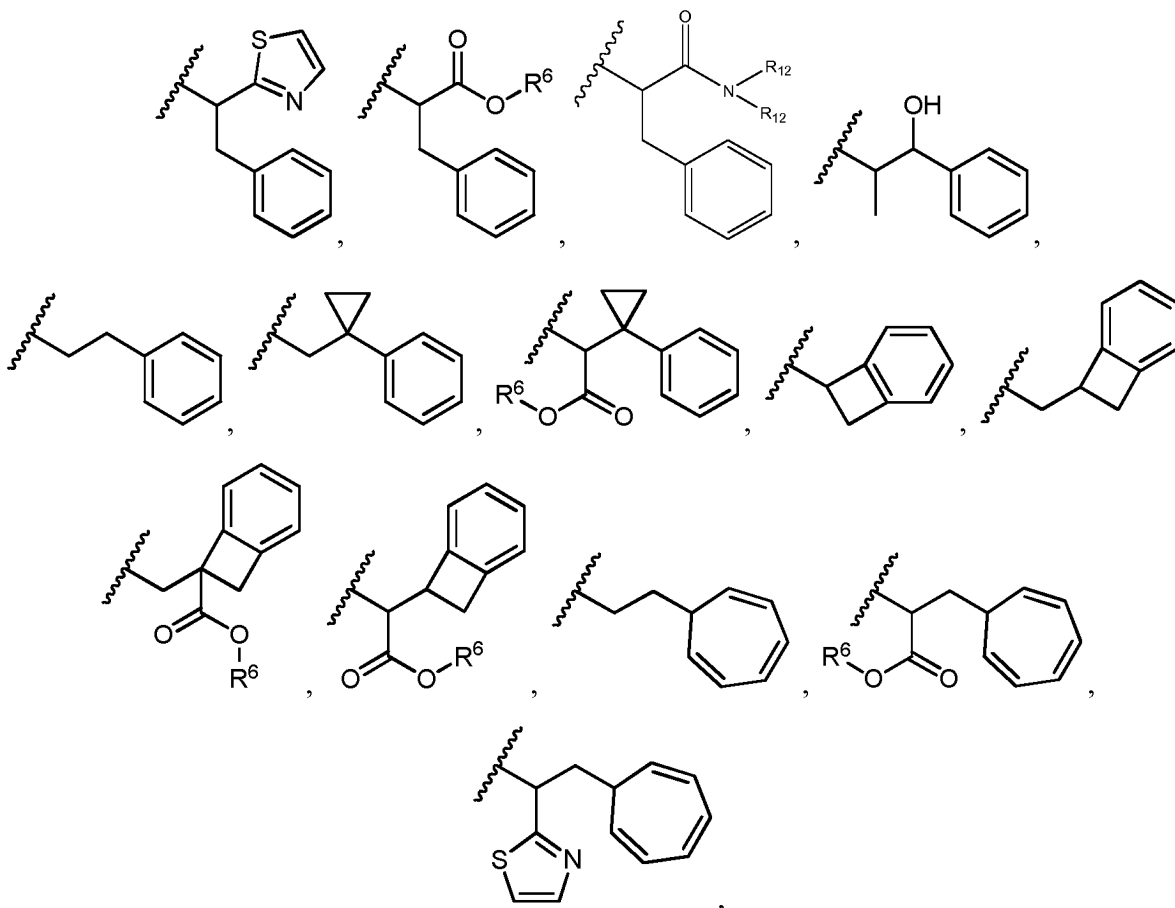
está presente;
R^{3A'} y R^{3B'} son cualquiera de los siguientes:

10 (i) R^{3A'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y
R^{3B'} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈, o R^{3B'} es alquileno C₂-C₄ y forma un anillo saturado de 5 a 6 miembros según se indica mediante



o

15 (ii) R^{3A'} y R^{3B'} tomados juntos son bien alquileno C₂-C₈, alquileno C₂-C₈ que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquileno C₁-C₈, heteroalquileno C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado; R⁵ es

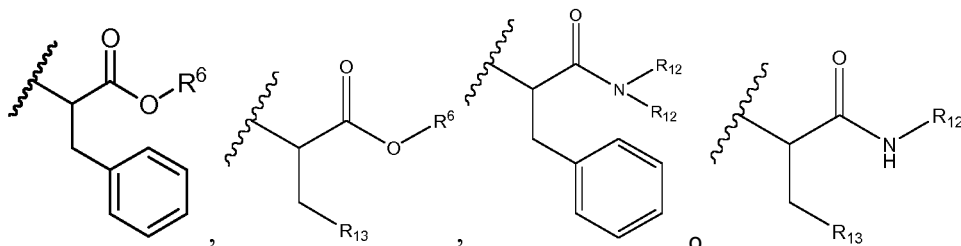


20

25

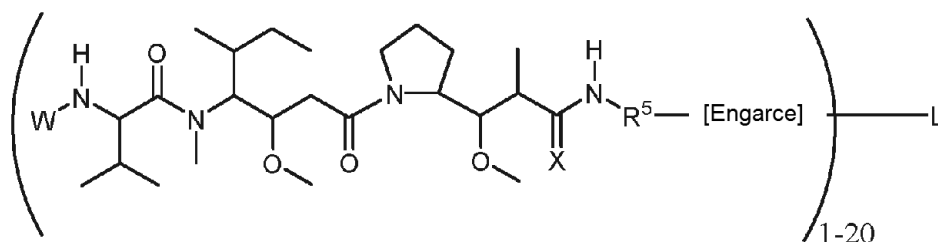
heterociclilo C₁-C₁₀, carbociclilo C₃-C₈ y arilo C₆-C₁₄ opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en -alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;

o R⁵ es



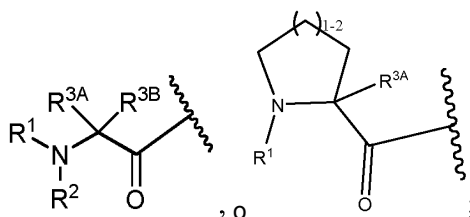
opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -alquil C₁-C₈-N(R')₂, -alquil C₁-C₈-C(O)R', -alquil C₁-C₈-C(O)OR', -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R', -SR' y arileno-R', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈, heterociclilo C₁-C₈, alquilen C₁-C₁₀-heterociclilo C₃-C₈ y arilo, o dos R' pueden, junto con el nitrógeno al que están unidos, formar un heterociclilo C₁-C₁₀;
 R⁶ es hidrógeno, -alquilo C₁-C₈, -alqueno C₂-C₈, -alquinilo C₂-C₈ o -haloalquilo C₁-C₈;
 R¹² es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, heterociclilo C₁-C₁₀ o arilo C₆-C₁₄;
 R¹³ es heterociclilo C₁-C₁₀; y
 X es O.

9. Un compuesto de fórmula **III d**:



III d

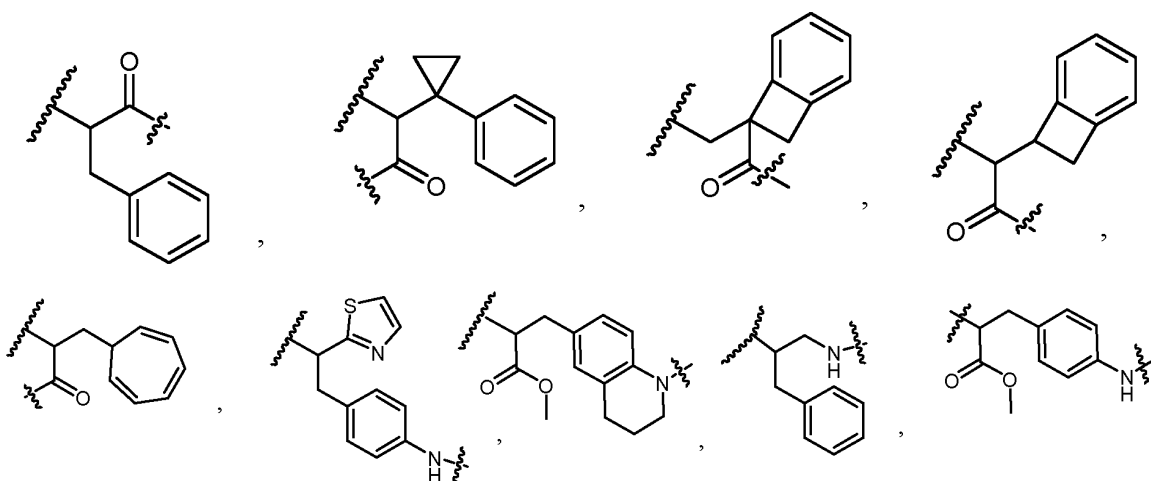
o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, en la que, independientemente cada vez que aparece, W es



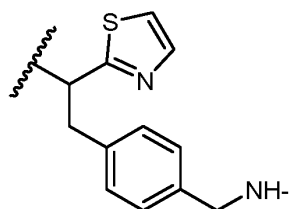
R¹ es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R² es hidrógeno, alquilo C₁-C₈ o haloalquilo C₁-C₈;
 R^{3A} y R^{3B} son cualquiera de los siguientes:

- (i) R^{3A} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; y R^{3B} es alquilo C₁-C₈, haloalquilo C₁-C₈, carbociclilo C₃-C₈ o halógeno; o
- (ii) R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alquilenos C₂-C₈, alquilenos C₂-C₈ que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquilenos C₁-C₈, heteroalquilenos C₁-C₈ que, junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado;

R⁵ es

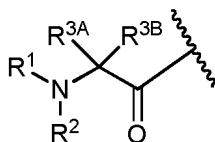


0

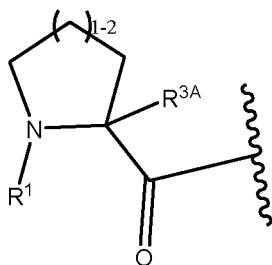


- 5 opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 grupos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₈, -O-(alquilo C₁-C₈), -C(O)R', -OC(O)R', -C(O)OR', -C(O)NH₂, -C(O)NHR', -C(O)N(R')₂, -NHC(O)R', -S(O)₂R', -S(O)R', -OH, halógeno, -N₃, -NH₂, -NH(R'), -N(R')₂, -CN, -NHC(=NH)NH₂, -NHCONH₂, -S(=O)₂R' y -SR', en los que cada R' se selecciona independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁-C₈ y arilo no sustituido;
- 10 [engarce] es un engarce divalente;
L es un anticuerpo;
X es O.

10. El compuesto, sal o solvato de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, 7 y 9, en el que W es



15 11. El compuesto, sal o solvato de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, 7 y 9, en el que W es



12. El compuesto, sal o solvato de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, 7 y 9, en el que R² es hidrógeno o alquilo C₁-C₈.

20 13. El compuesto, sal o solvato de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, 7 y 9, en el que R^{3A} es alquilo C₁-C₈, preferentemente metilo.

14. El compuesto, sal o solvato de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, 7 y 9, en el que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son bien alquileno C₂-C₈, alquileno C₂-C₈ que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado, forma un anillo carbocíclico saturado; o bien heteroalquileno C₁-C₈, heteroalquileno C₁-C₈ que, junto con el carbono al que

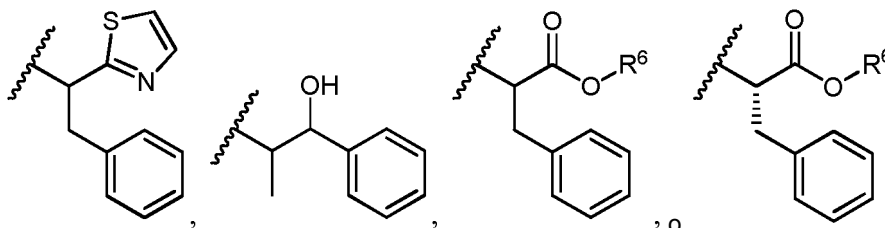
está enlazado, forma un anillo heterocíclico saturado.

15. El compuesto, sal o solvato de la reivindicación 14, en el que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂- que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado forma ciclopropilo.

5 16. El compuesto, sal o solvato de la reivindicación 14, en el que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son -CH₂CH₂CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂CH₂- que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado forma ciclopentilo.

17. El compuesto, sal o solvato de la reivindicación 14, en el que R^{3A} y R^{3B} tomados juntos son -CH₂OCH₂-, -CH₂OCH₂- que cuando se toma junto con el carbono al que está enlazado forma oxetaniilo.

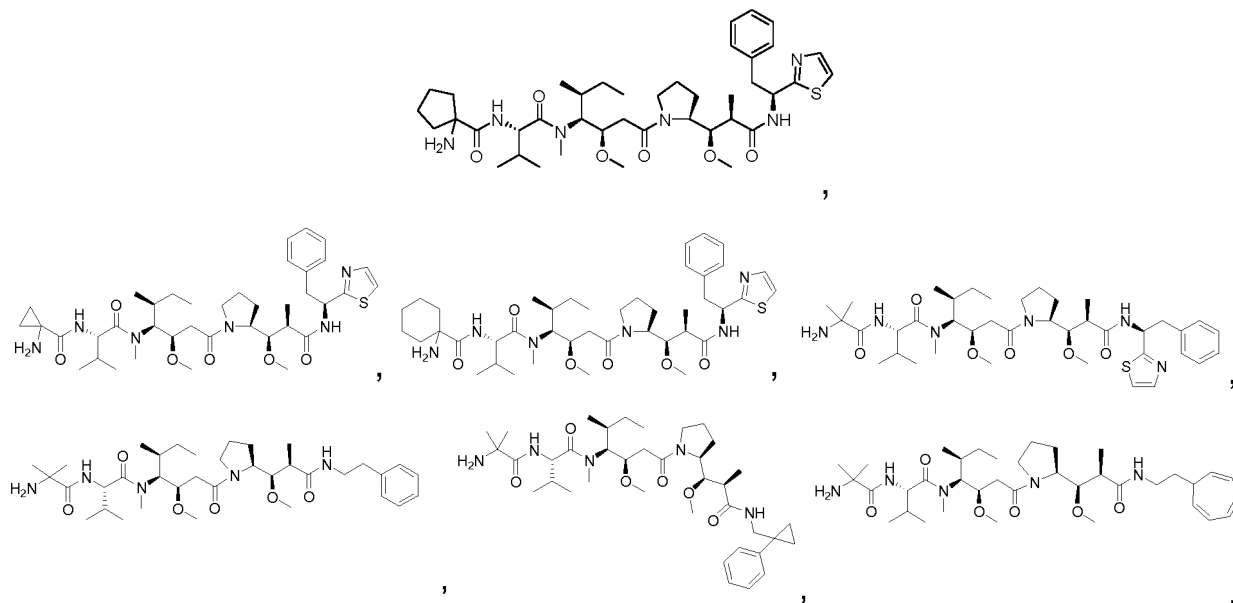
18. El compuesto, sal o solvato de cualquiera de las reivindicaciones 1-2, 4, 6 y 8, en el que R⁵ es

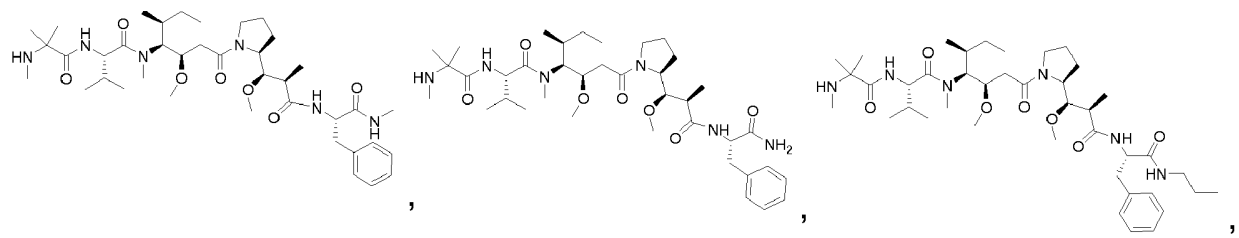
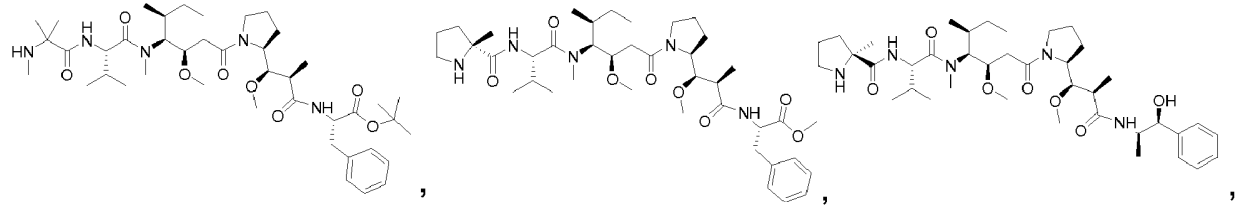
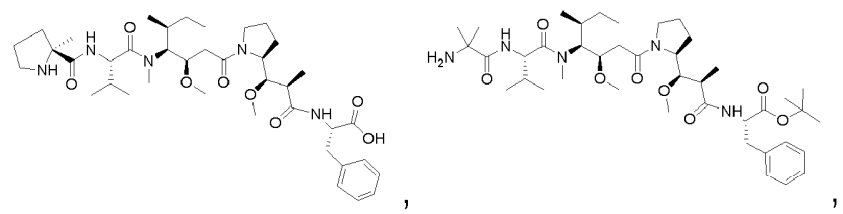
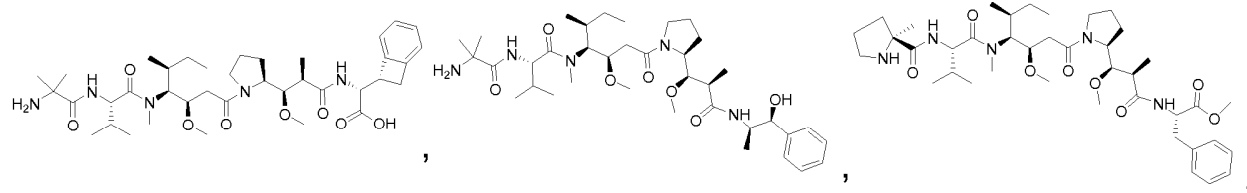
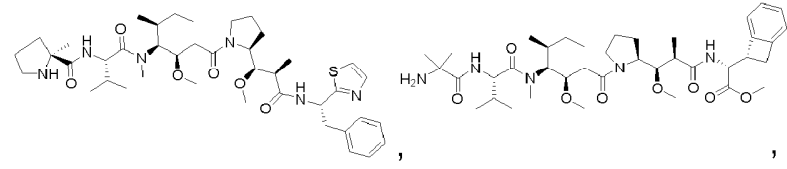
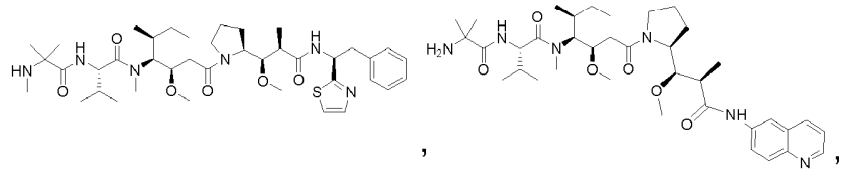
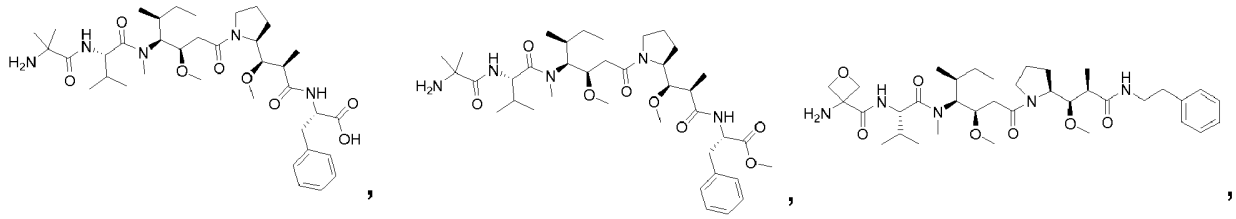


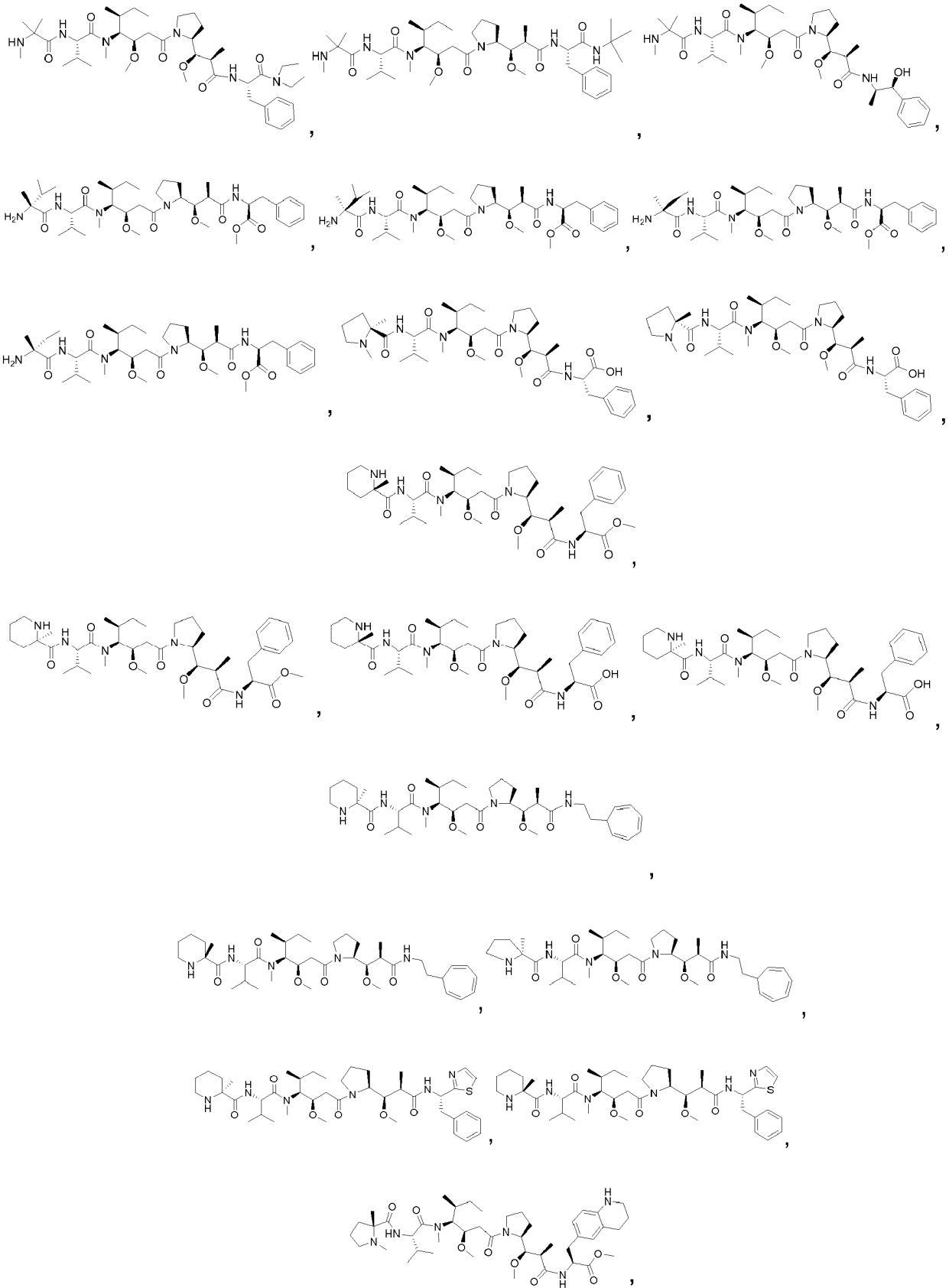
10 19. El compuesto, la sal o el solvato de cualquiera de las reivindicaciones 4-9 en el que el anticuerpo se selecciona de trastuzumab, oregovomab, edrecolomab, cetuximab, un anticuerpo monoclonal humanizado al receptor de vitronectina (α_vβ₃); alemtuzumab; un anticuerpo anti-HLA-DR humanizado para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; 1311 Lym-1; un anticuerpo anti-HLA-DRI murino para el tratamiento de linfoma no hodkiniano; un mAc anti-CD2 humanizado para el tratamiento de Enfermedad de Hodgkin o un linfoma no hodkiniano; labetuzumab; bevacizumab; ibritumomab tiuxetan; ofatumumab; panitumumab; rituximab; tositumomab; ipilimumab; gemtuzumab; un anticuerpo anti-IL13; y un anticuerpo anti-Notch.

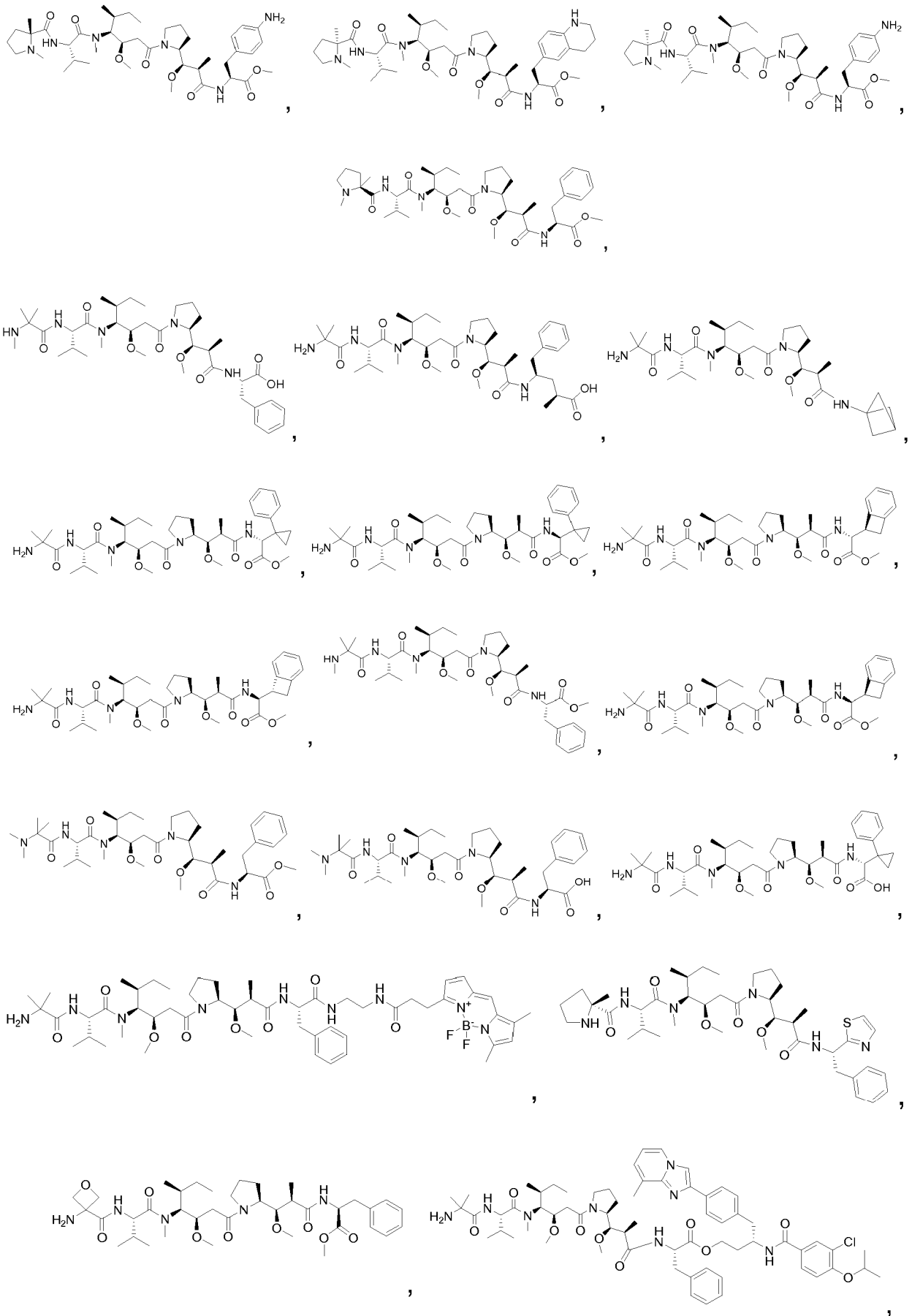
15

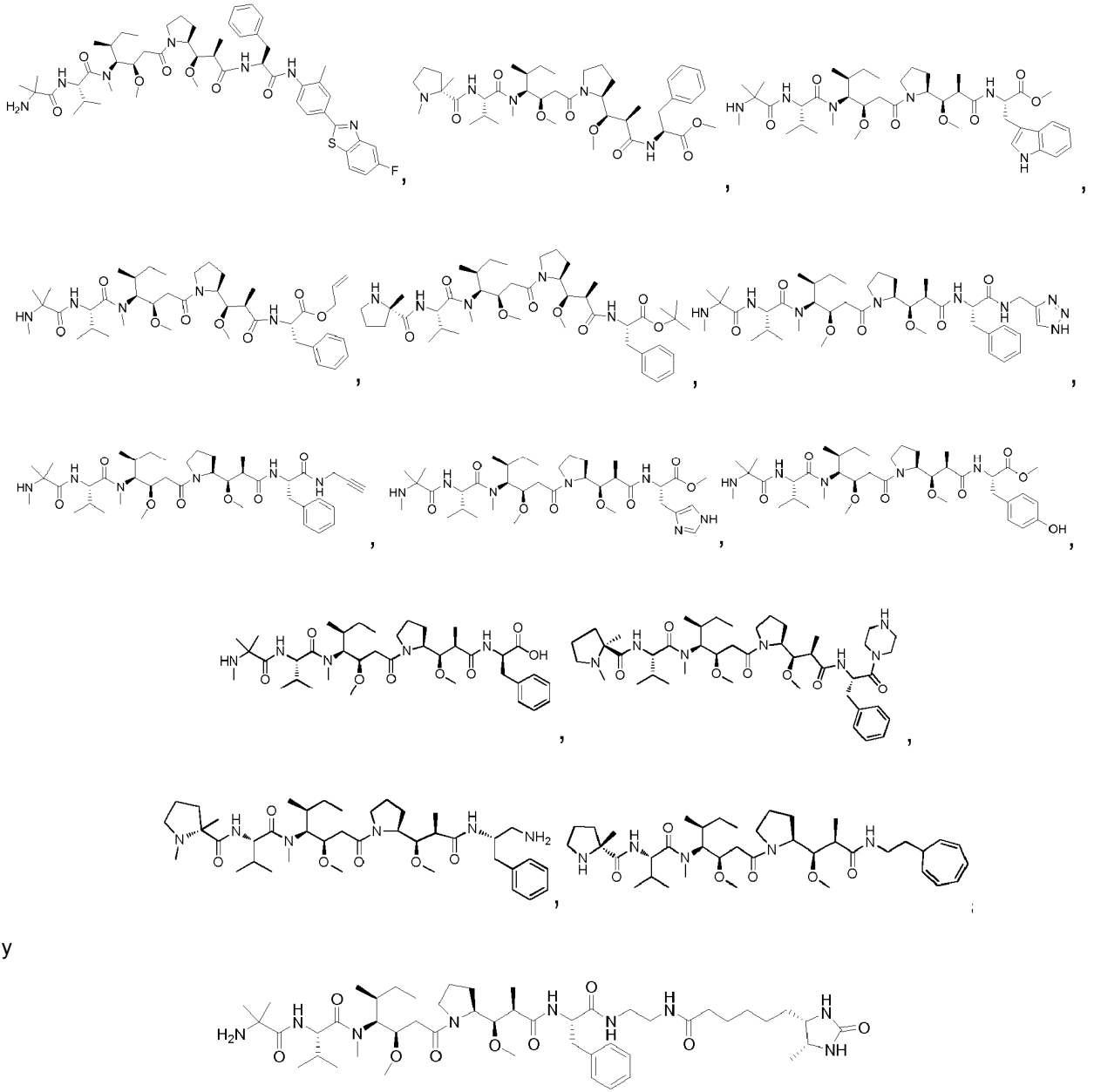
20. Un compuesto o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre:



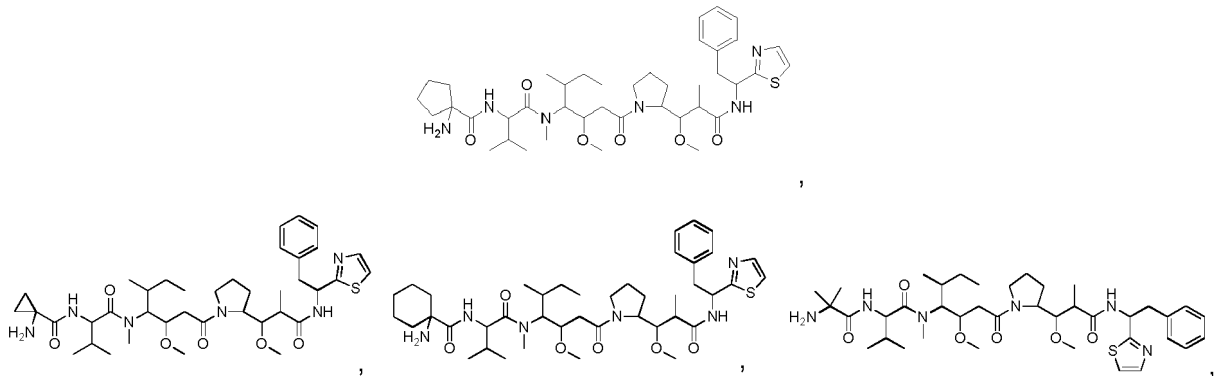


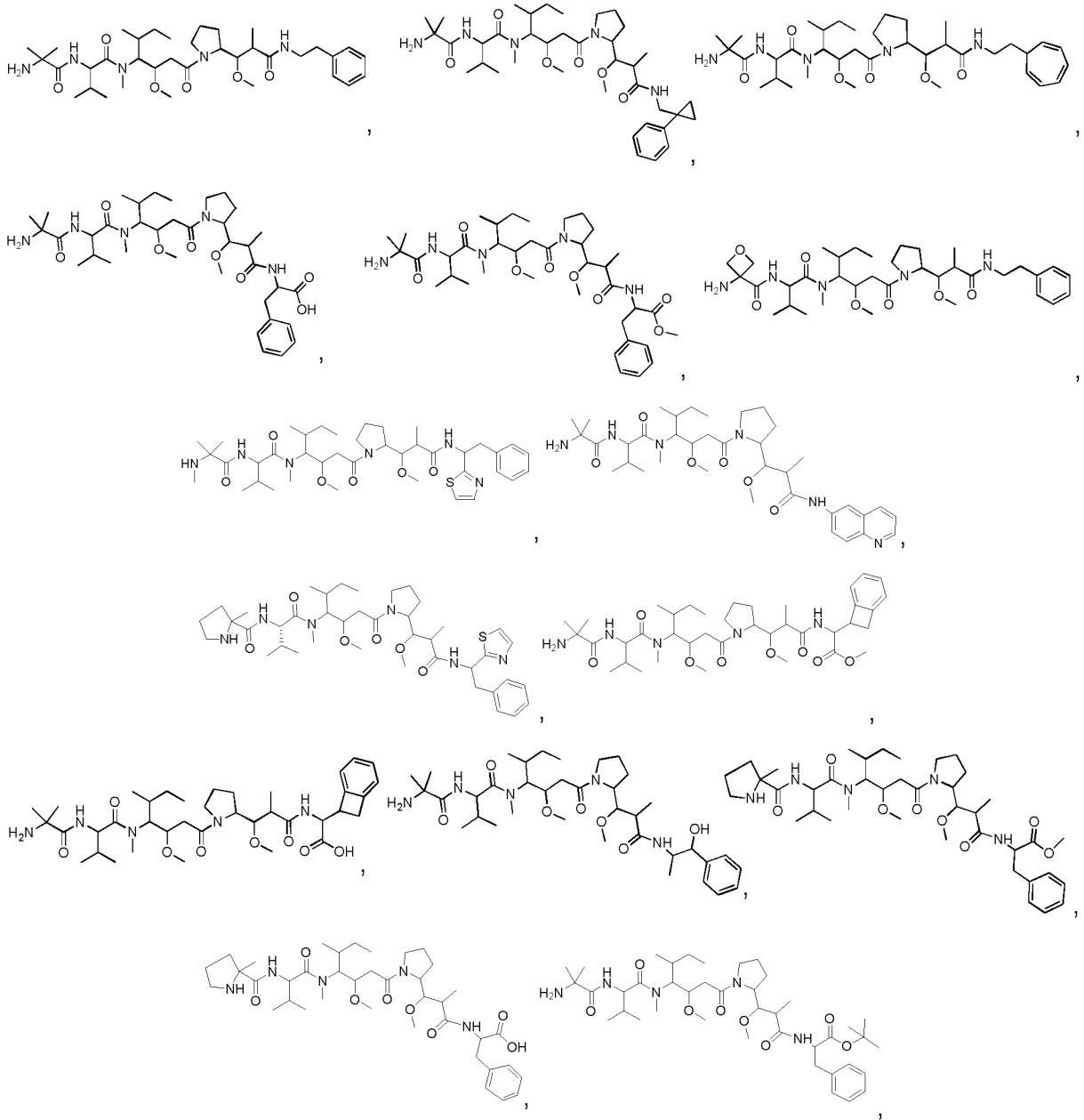


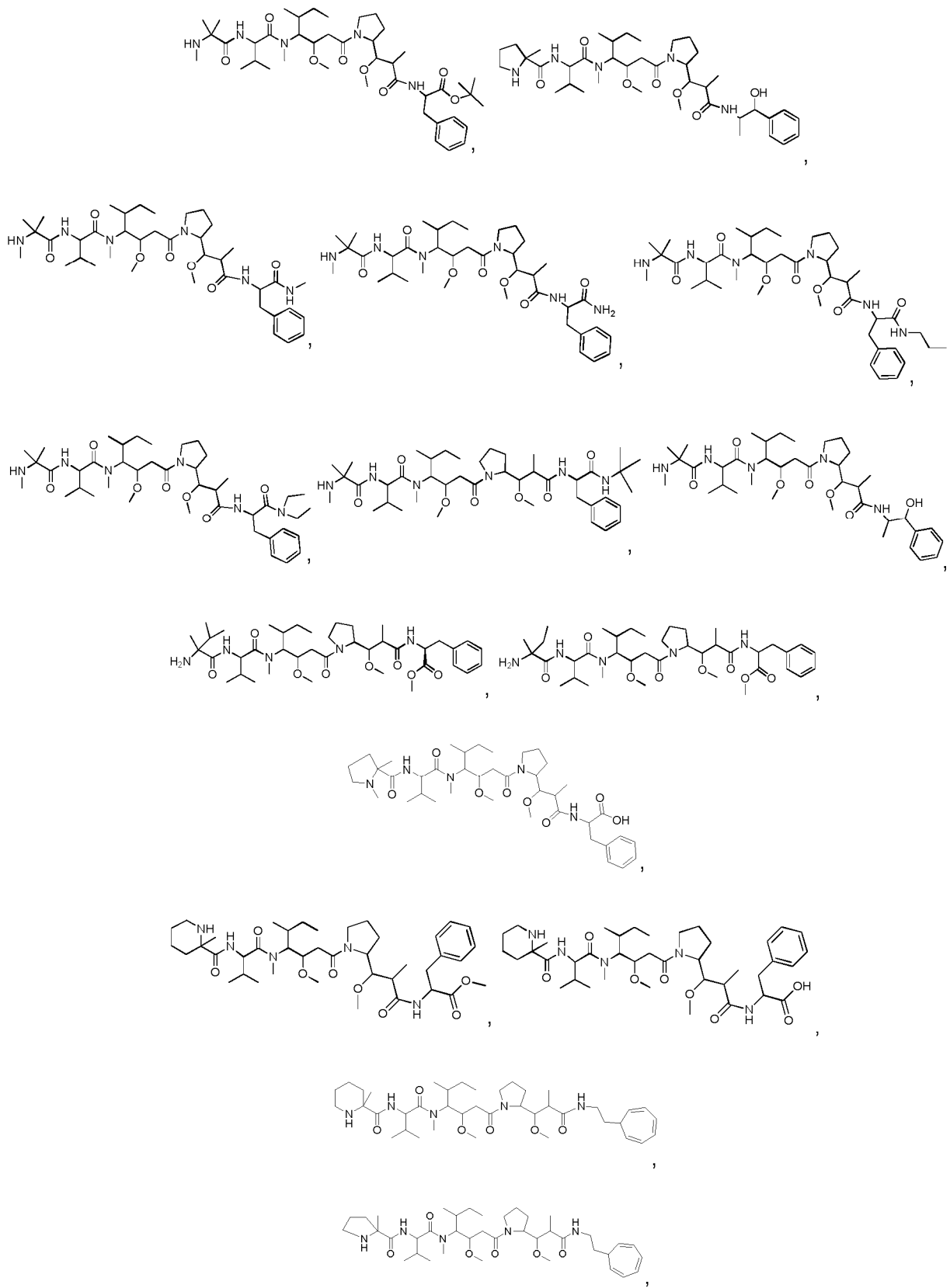


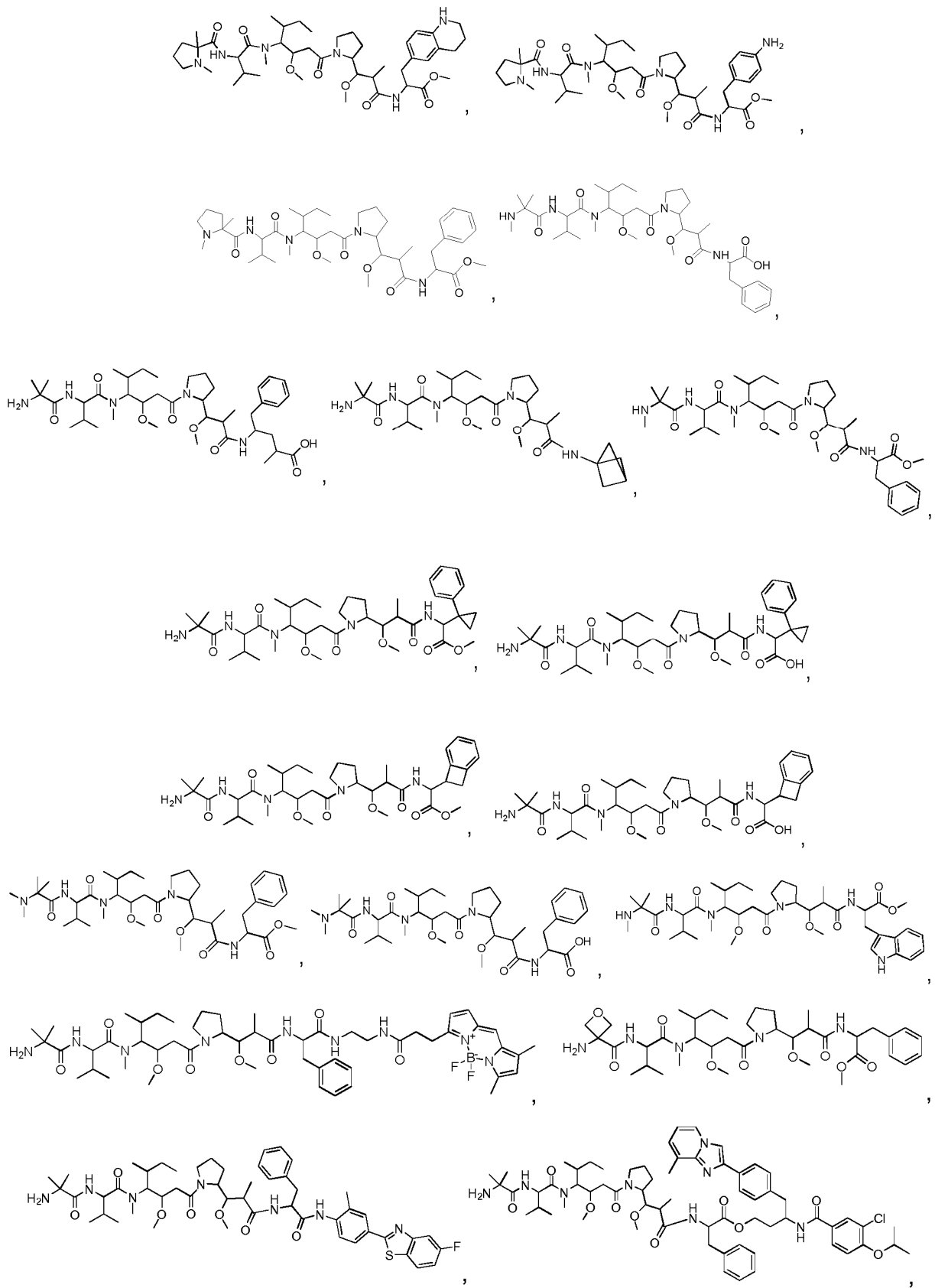


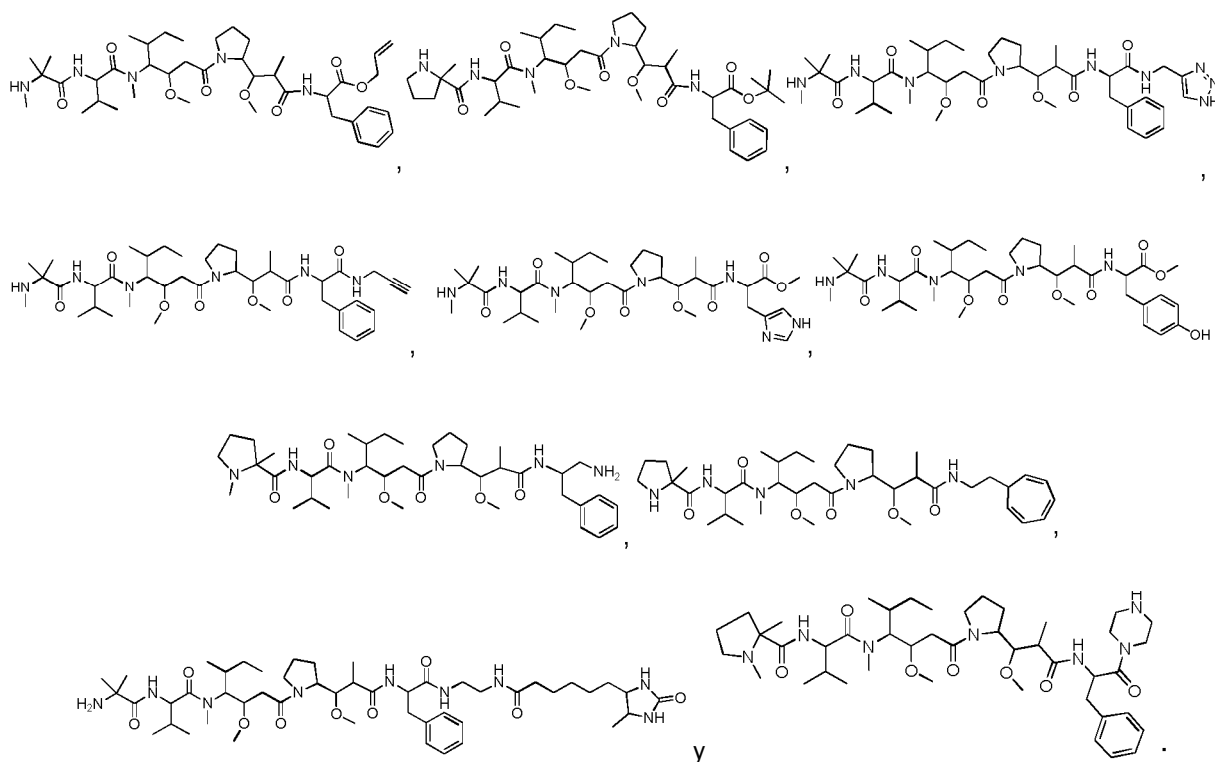
21. Un compuesto o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado entre:









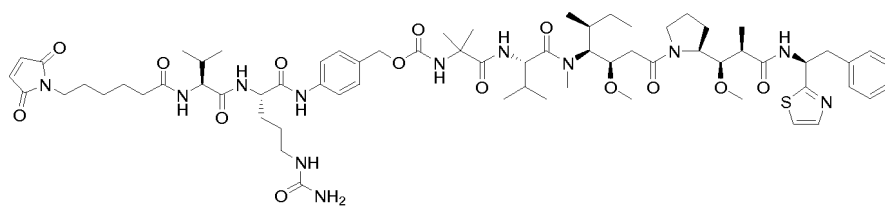


22. Una carga útil-enganche o conjugado de anticuerpo-fármaco, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, que comprende un radical de un compuesto de la reivindicación 20 o 21.

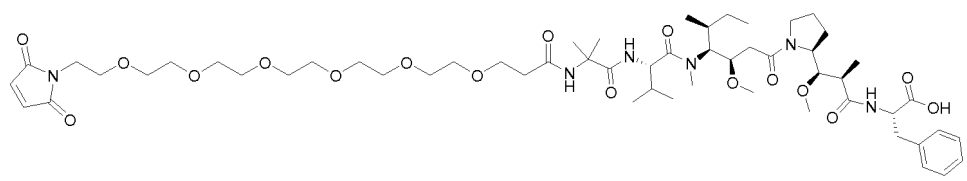
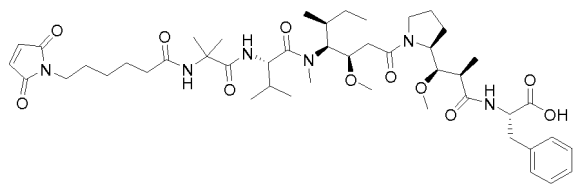
5

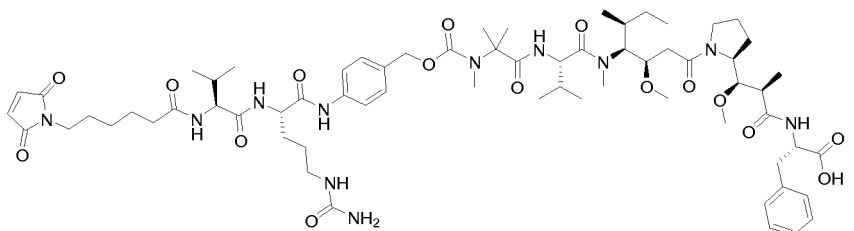
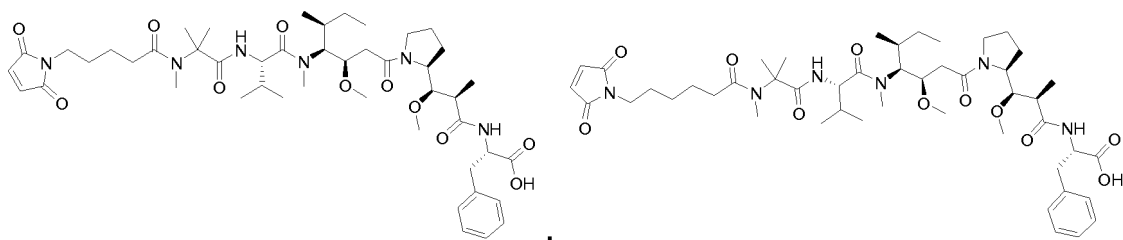
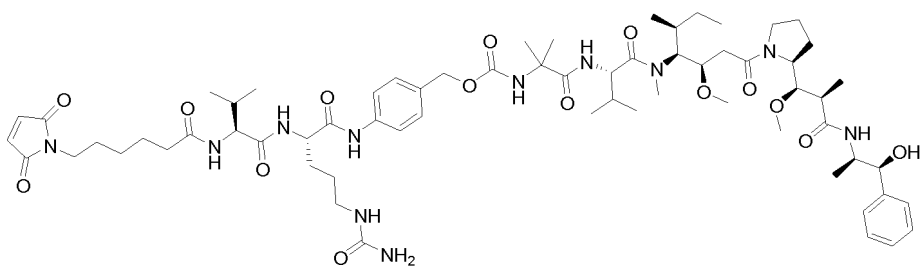
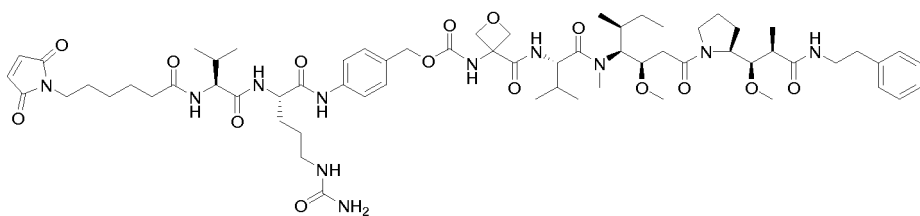
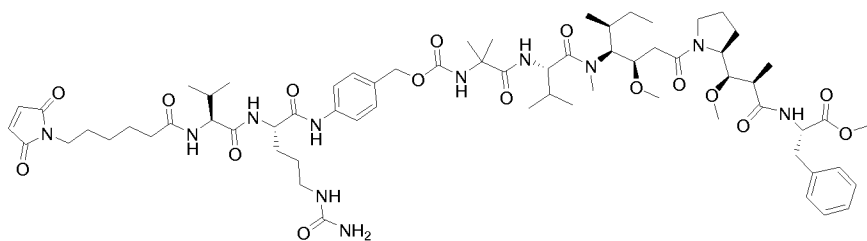
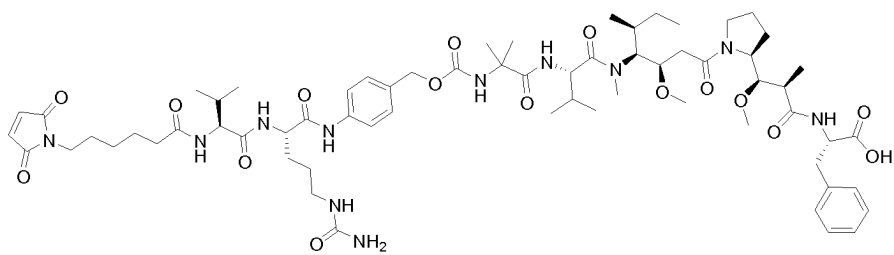
23. Un conjugado de anticuerpo fármaco, o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables, que comprende un radical de un compuesto de las reivindicaciones 1-3.

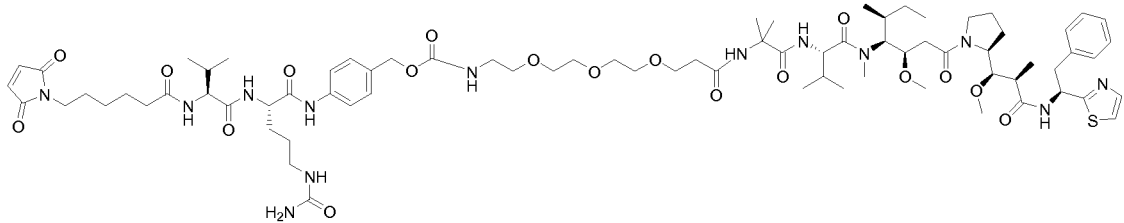
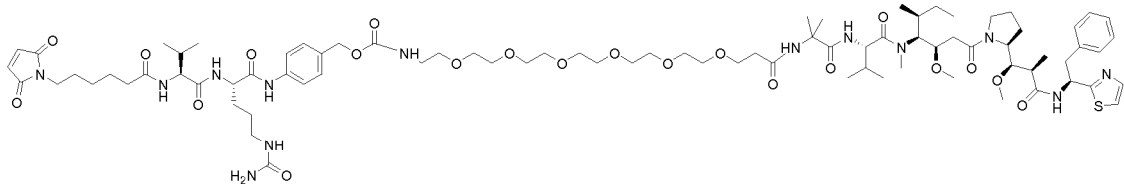
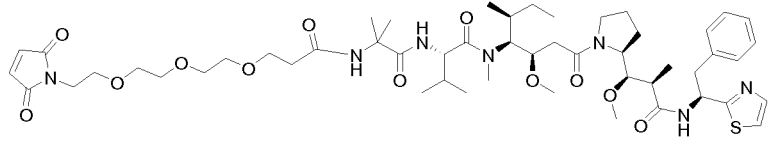
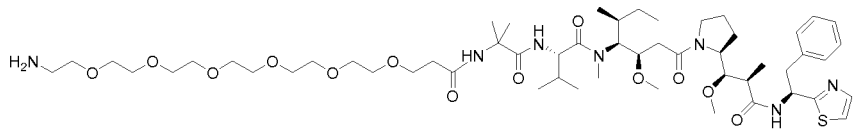
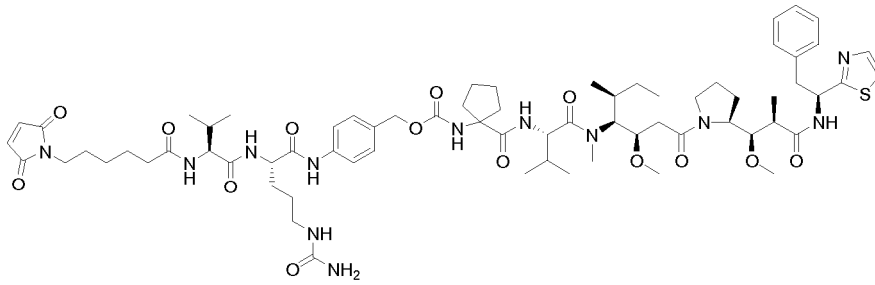
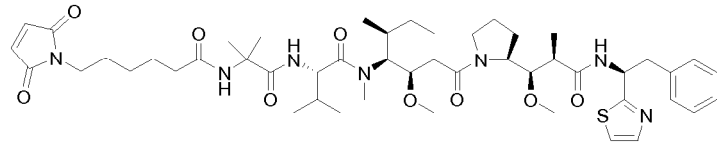
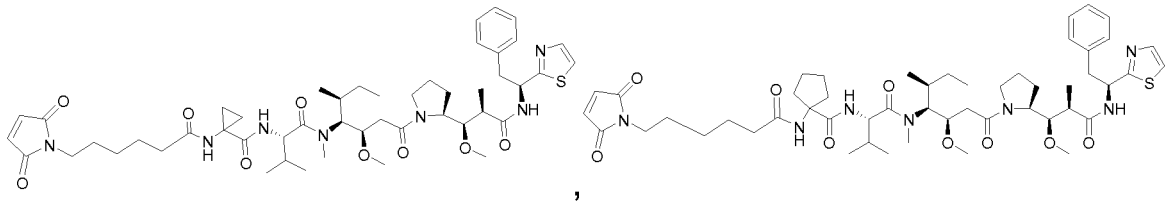
24. Un compuesto o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 o 3 seleccionado entre:

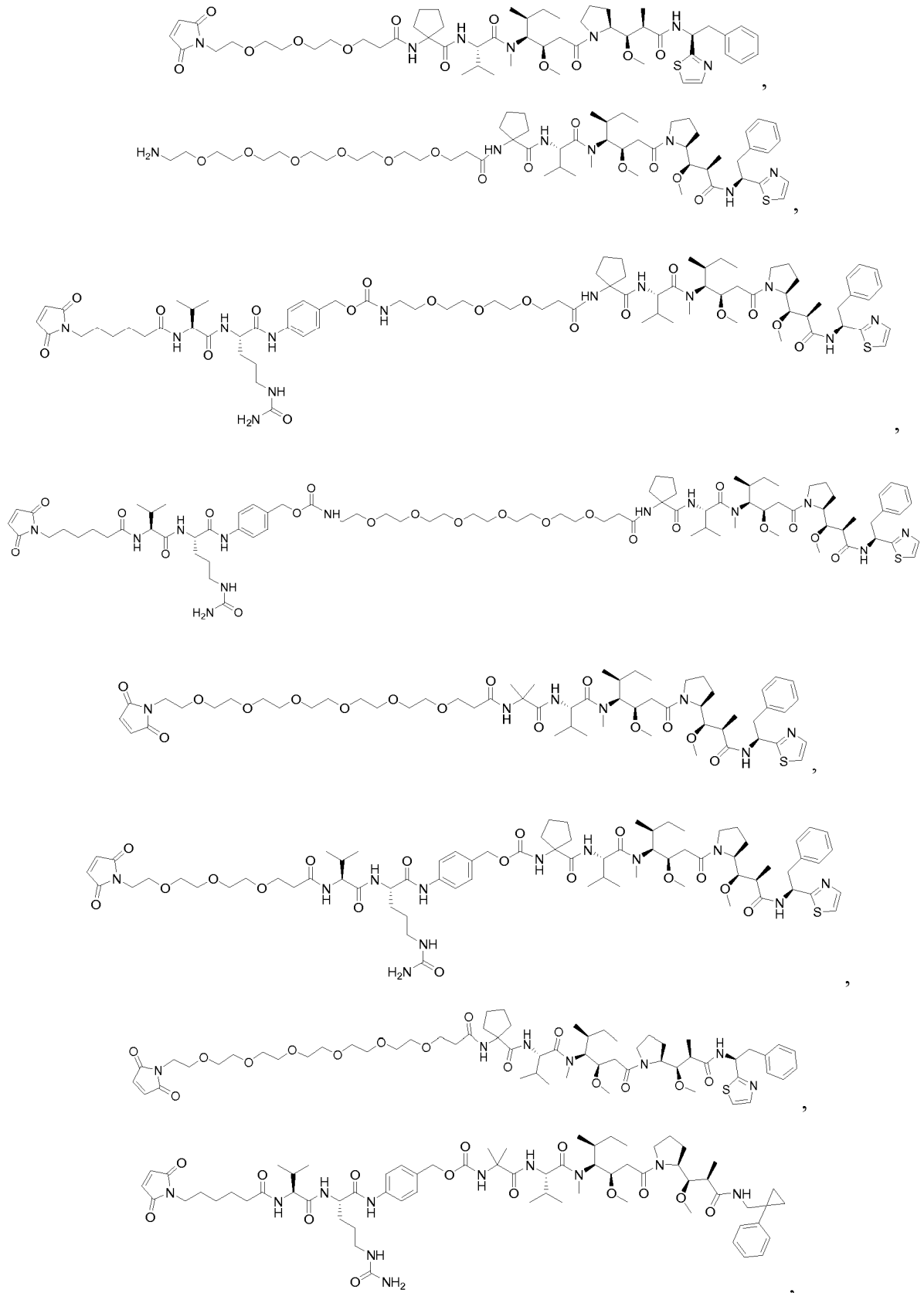


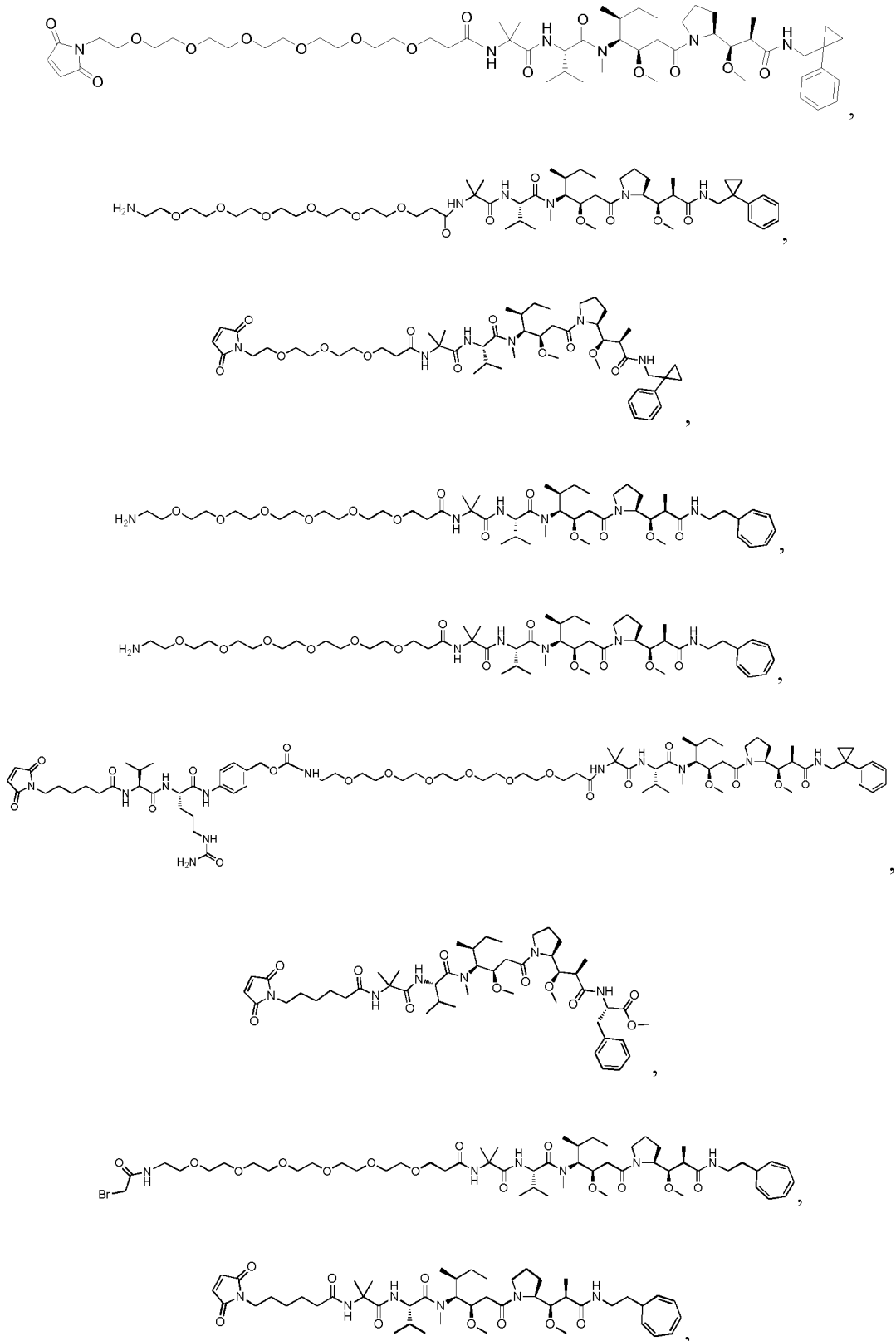
10

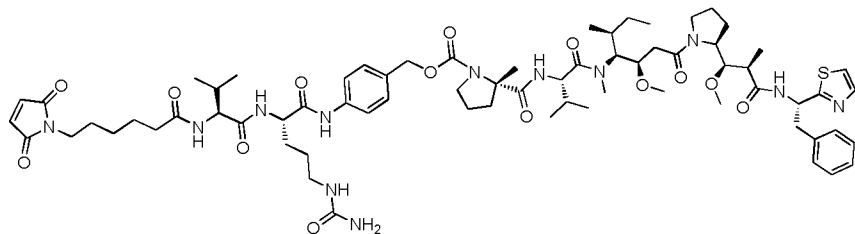
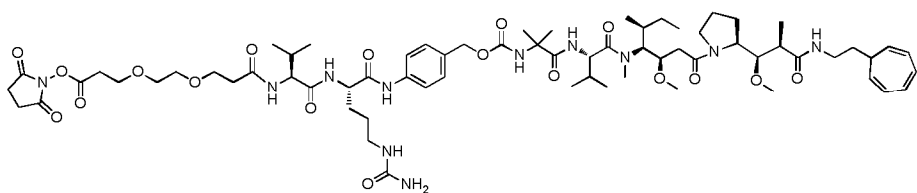
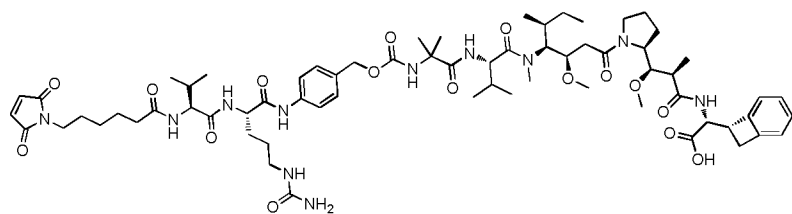
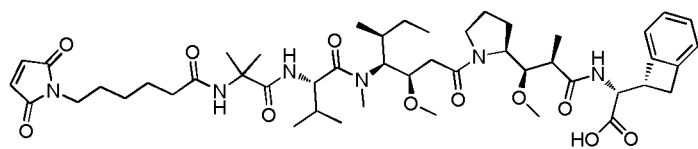
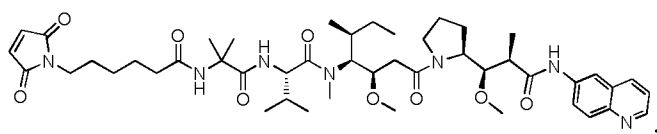
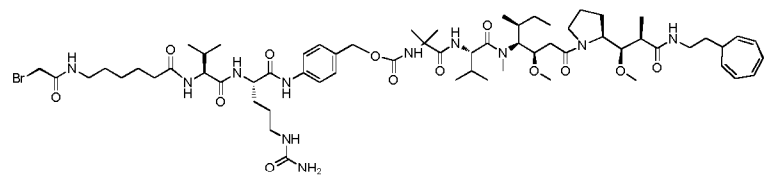
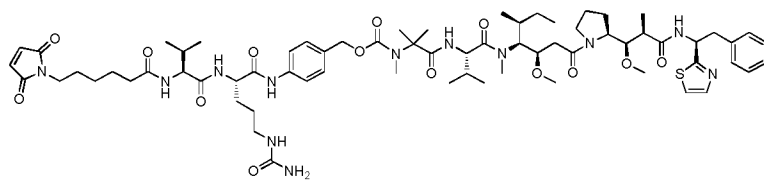


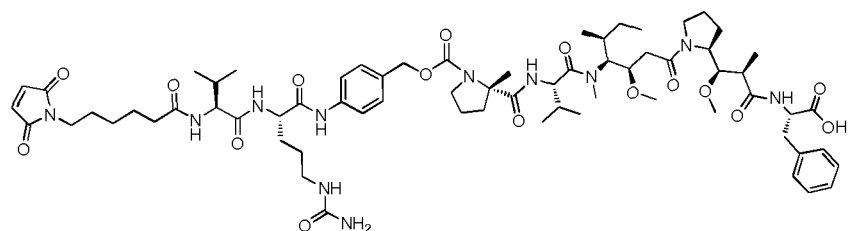
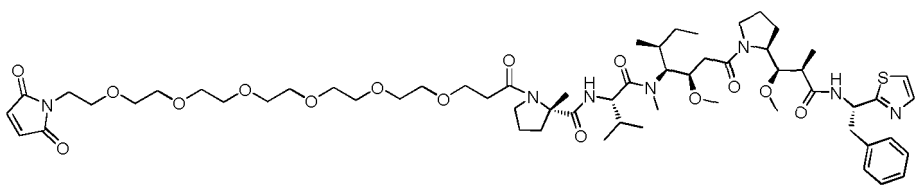
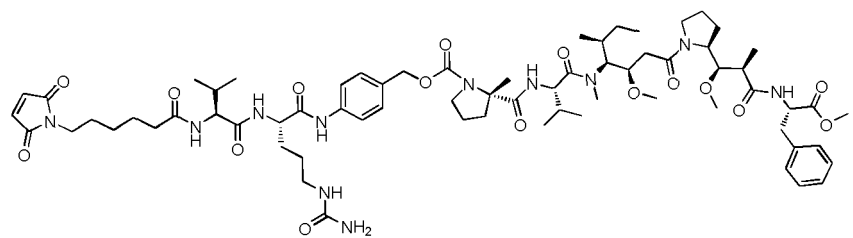
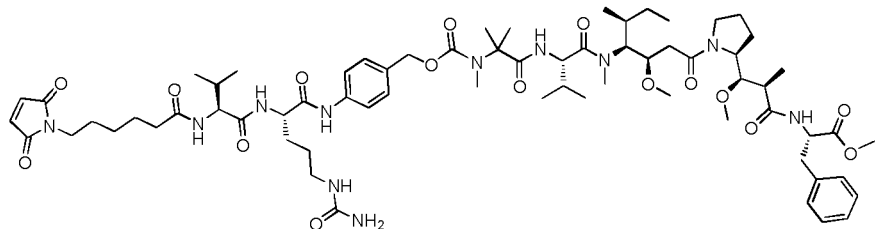
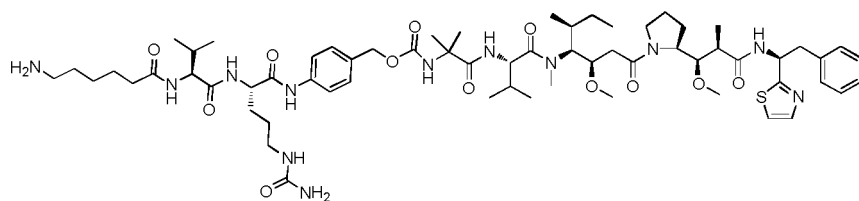
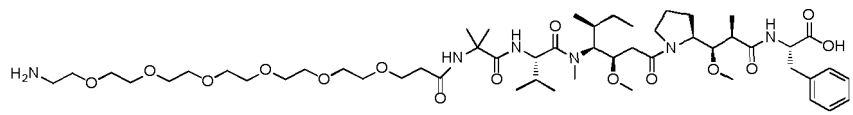
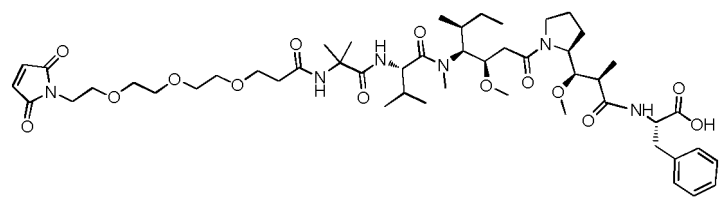


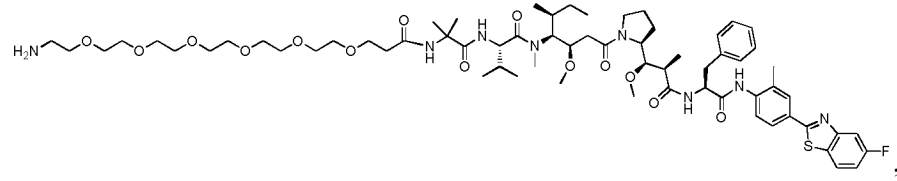
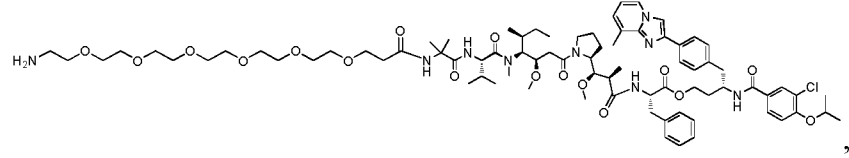
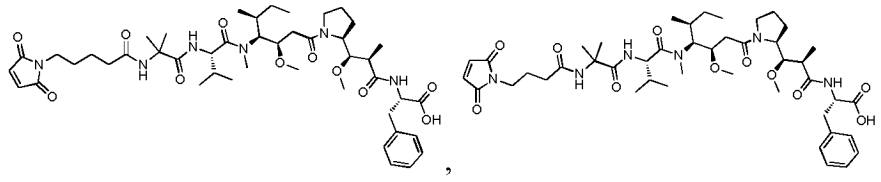
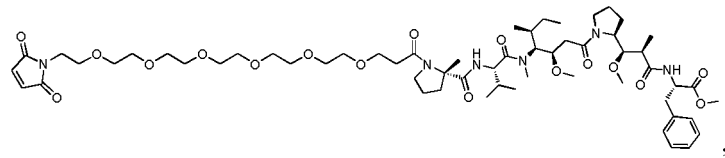
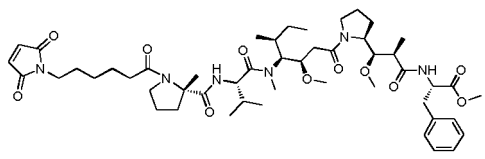
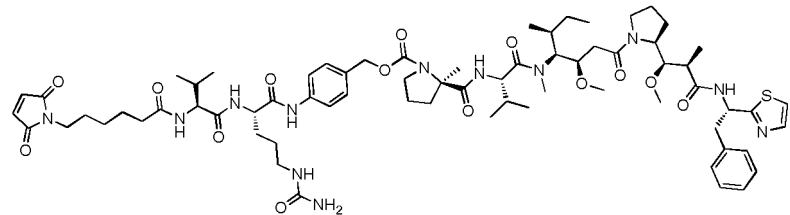
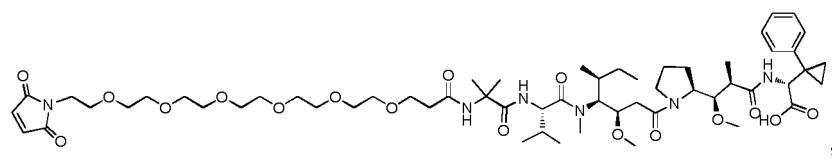
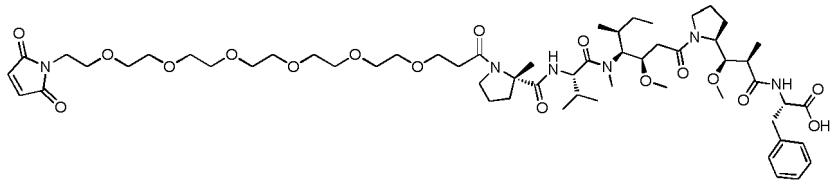


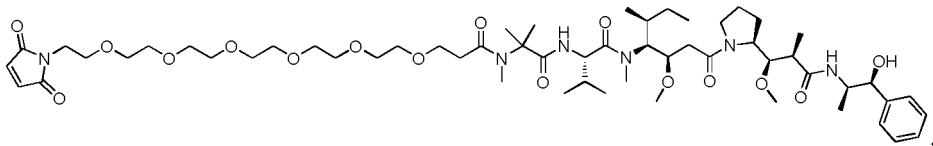
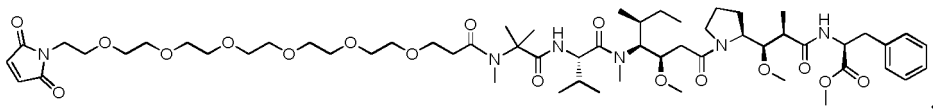
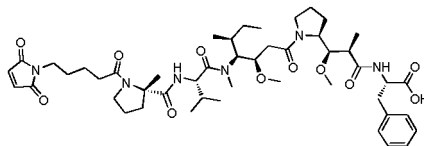
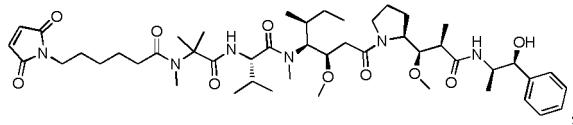
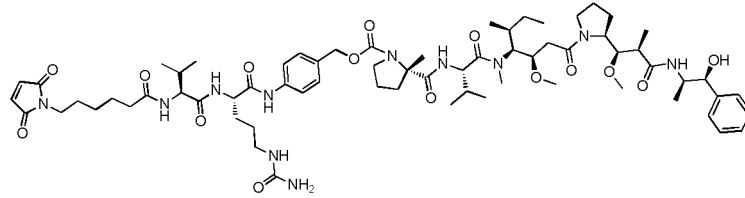
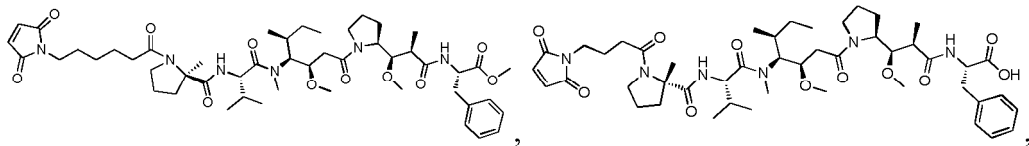
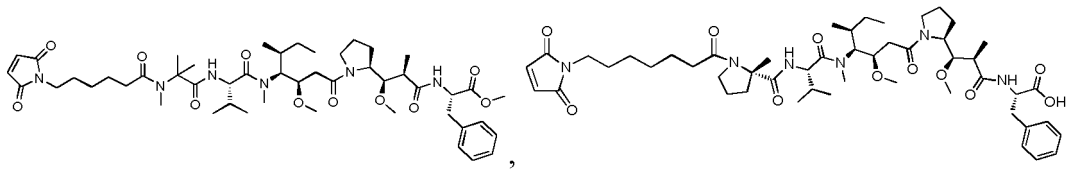
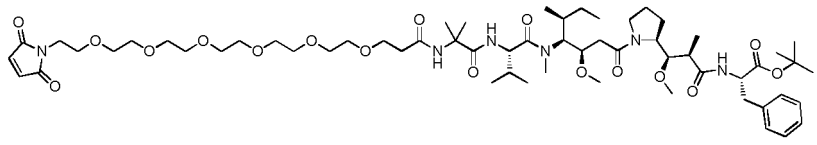
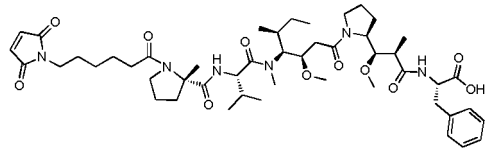


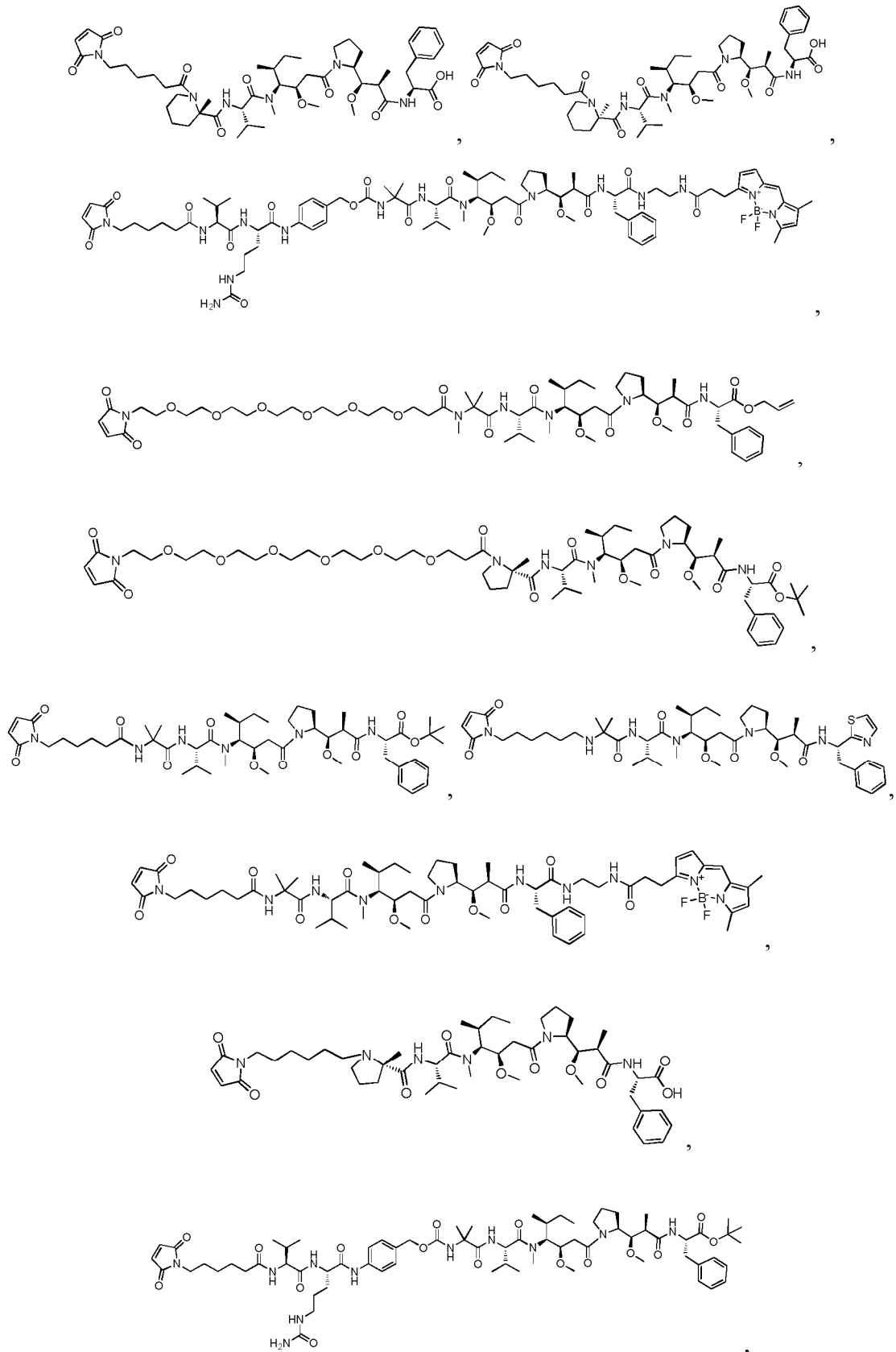


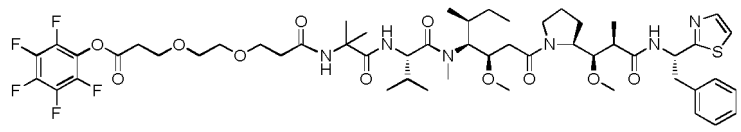
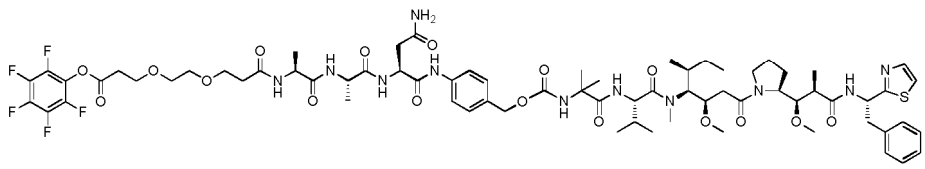
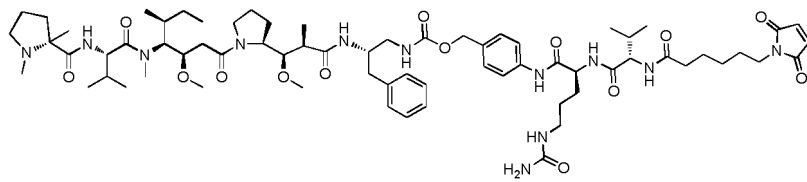
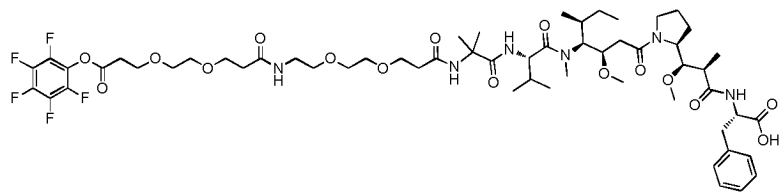
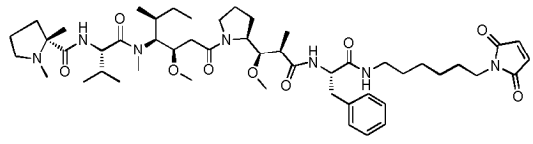
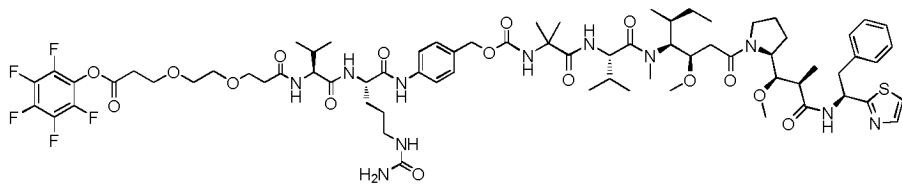
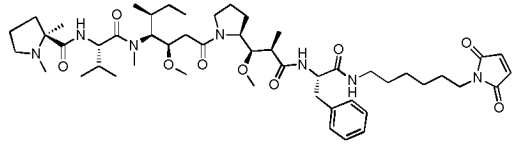
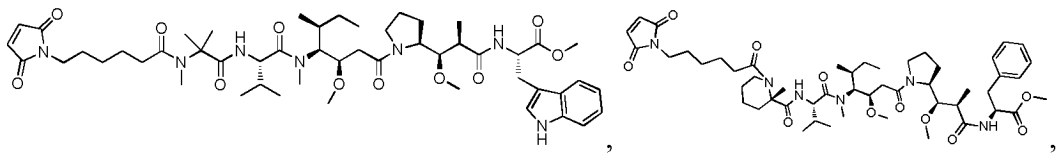


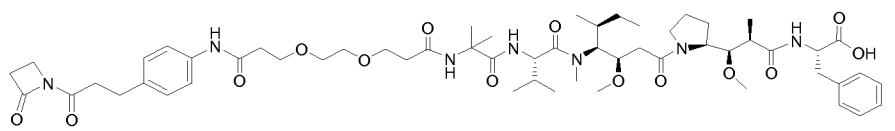
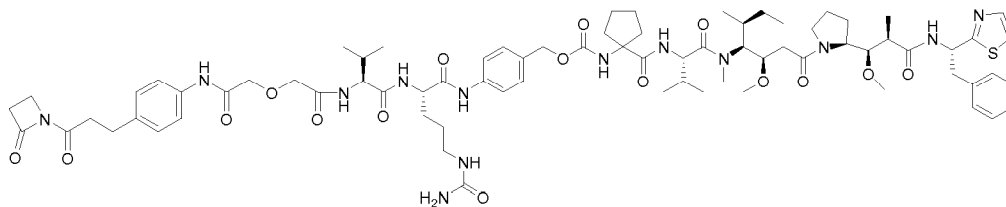
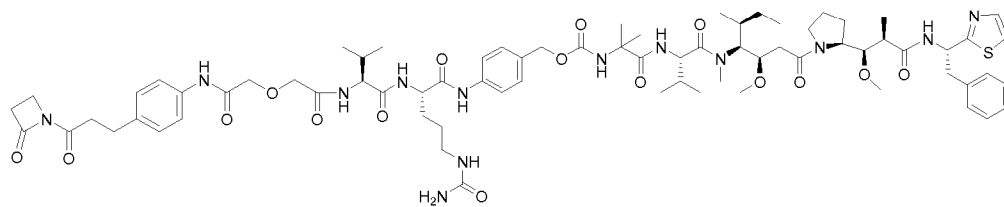
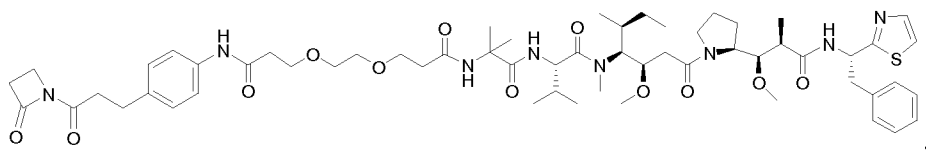
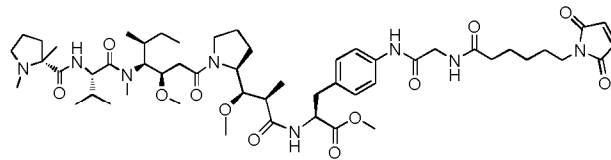
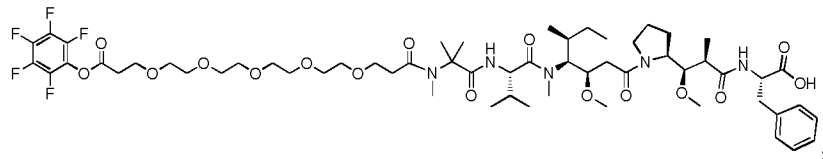
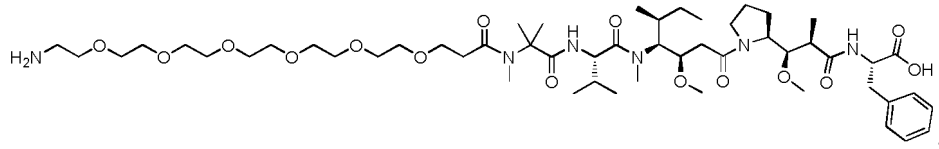
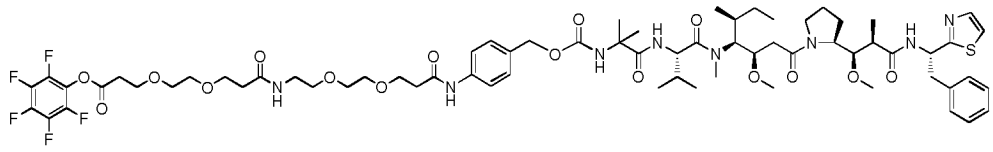


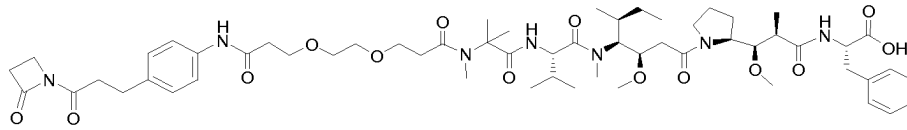




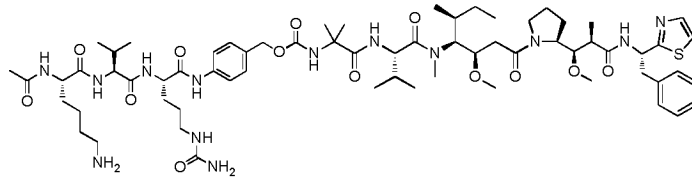






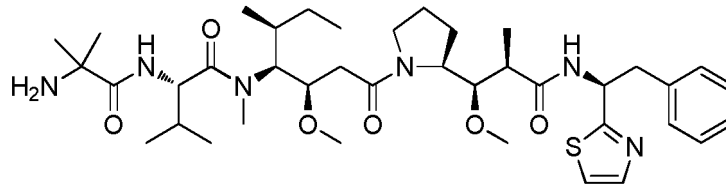


y

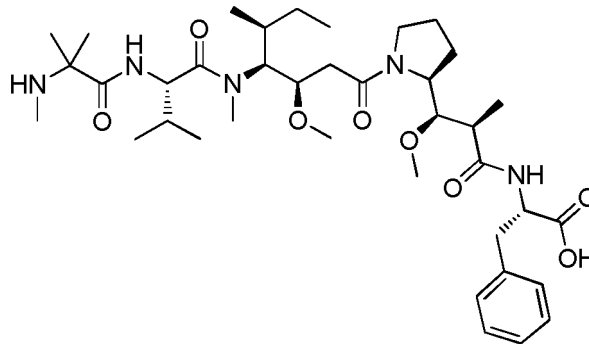


5 25. Un conjugado de anticuerpo-fármaco o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4, 5, 7 o 9 que comprende un radical de un compuesto de la reivindicación 24.

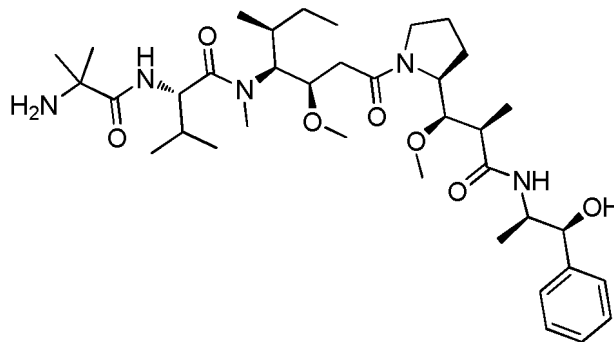
26. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es



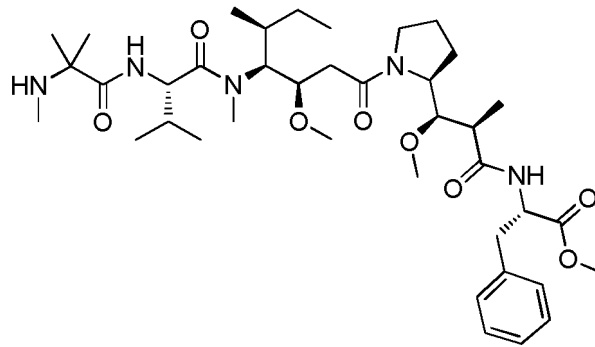
10 27. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es



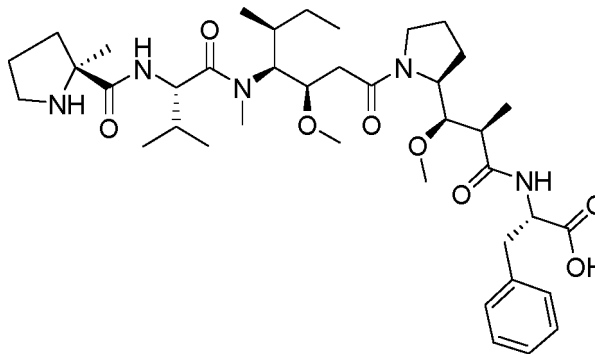
28. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es



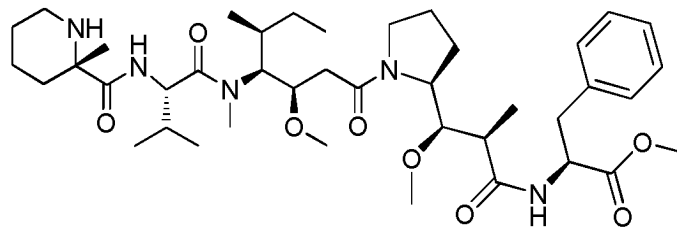
29. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es



30. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es

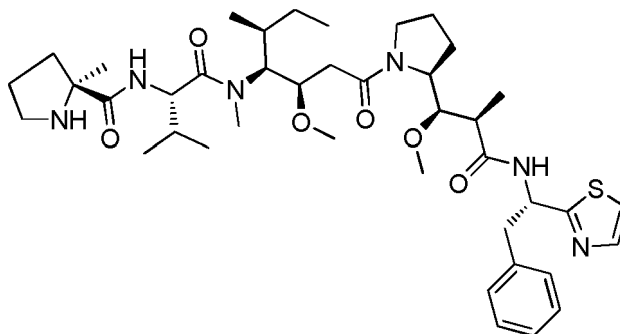


31. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es

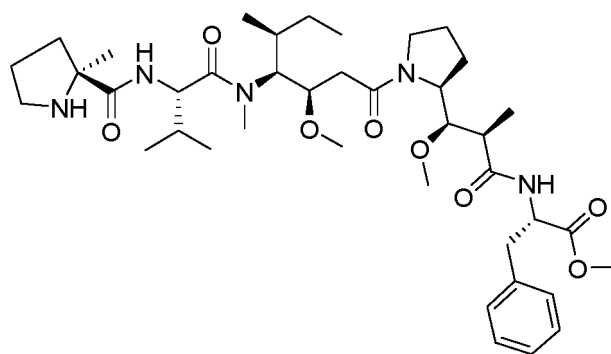


5

32. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es

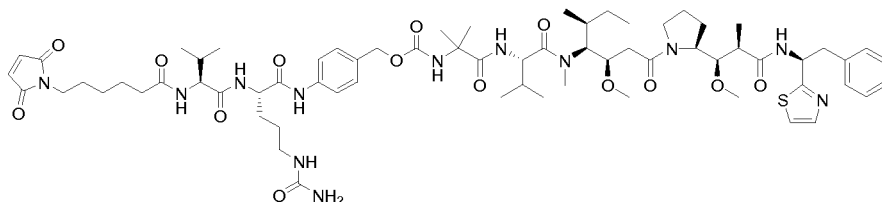


33. Un compuesto de la reivindicación 1, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es

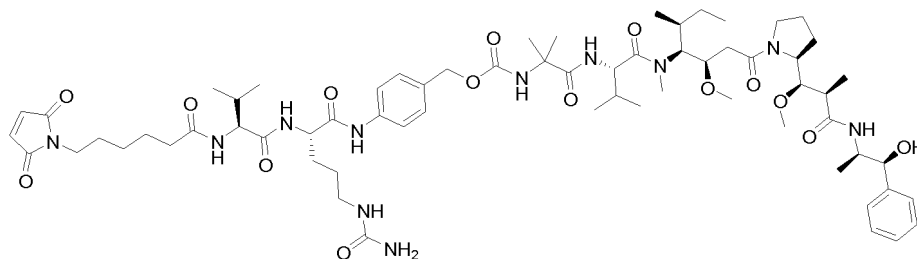


34. Una carga útil-engarce o conjugado de anticuerpo-fármaco, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, que comprende un radical de un compuesto de las reivindicaciones 26-33.

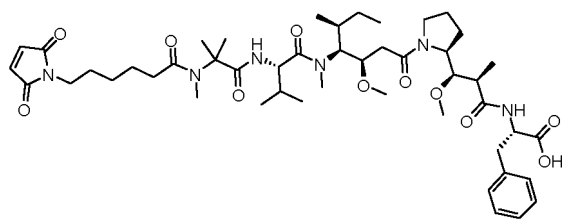
5 35. Un compuesto de la reivindicación 24, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es



36. Un compuesto de la reivindicación 24, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es

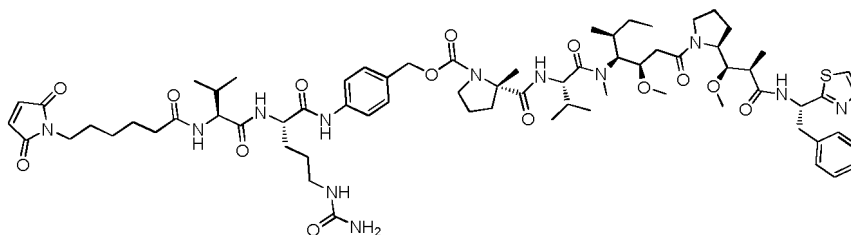


37. Un compuesto de la reivindicación 24, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es

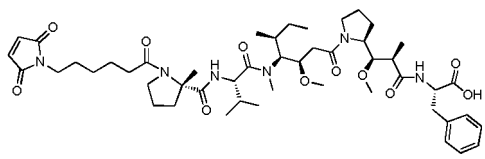


10

38. Un compuesto de la reivindicación 24, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es



39. Un compuesto de la reivindicación 24, o una sal o solvato del mismo farmacéuticamente aceptable, que es



40. Un conjugado fármaco-anticuerpo, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 4, 5, 7 o 9, que comprende un radical de un compuesto de las reivindicaciones 35-39.

5 41. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-40 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

42. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-40 o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica de la reivindicación 41, para su uso en el tratamiento de cáncer.

10

Figura 1

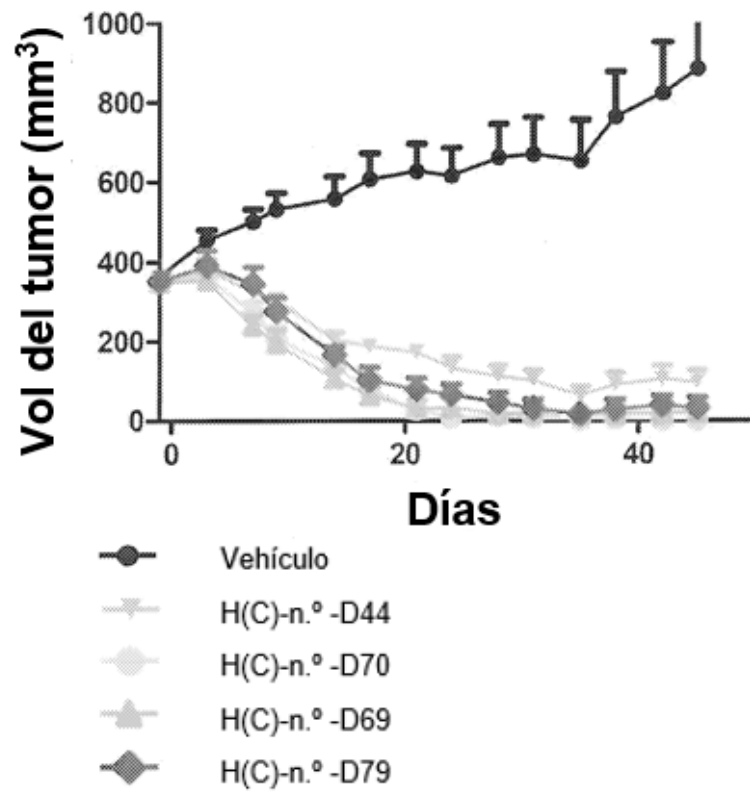


Figura 2

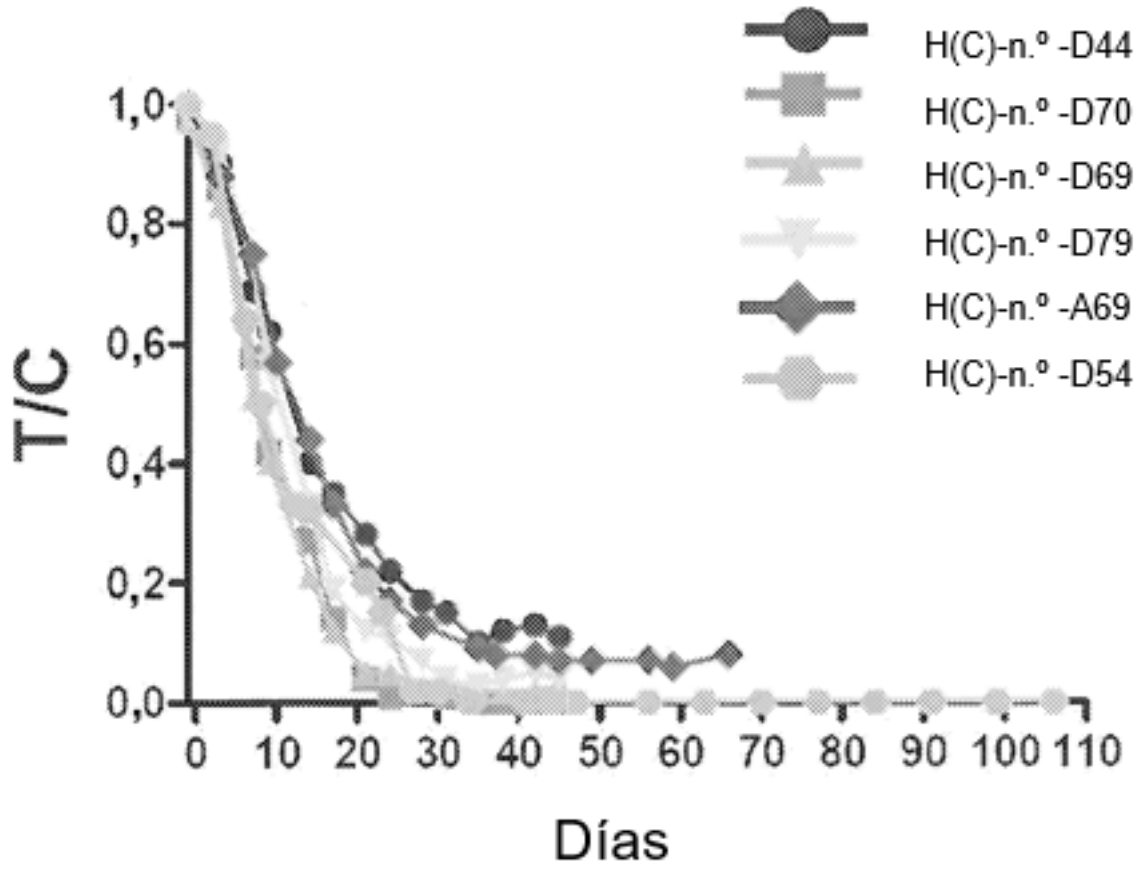


Figura 3

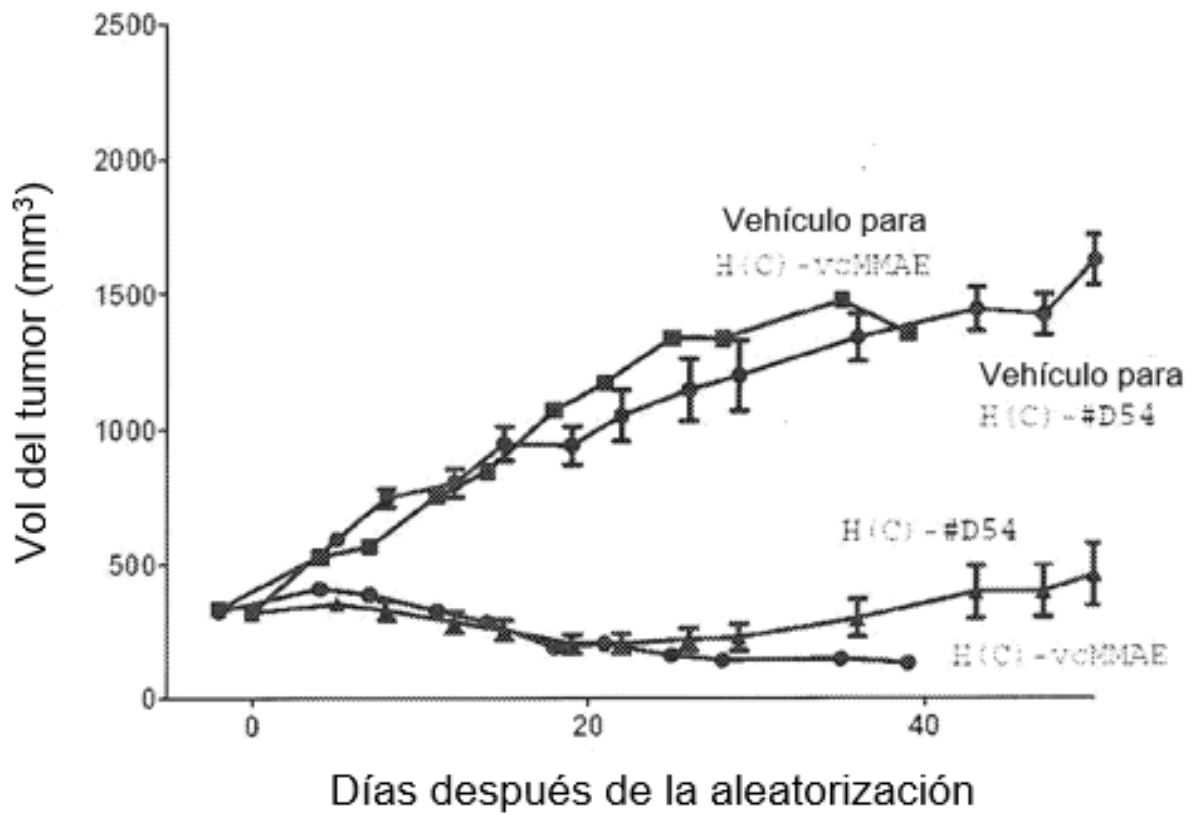


Figura 4A

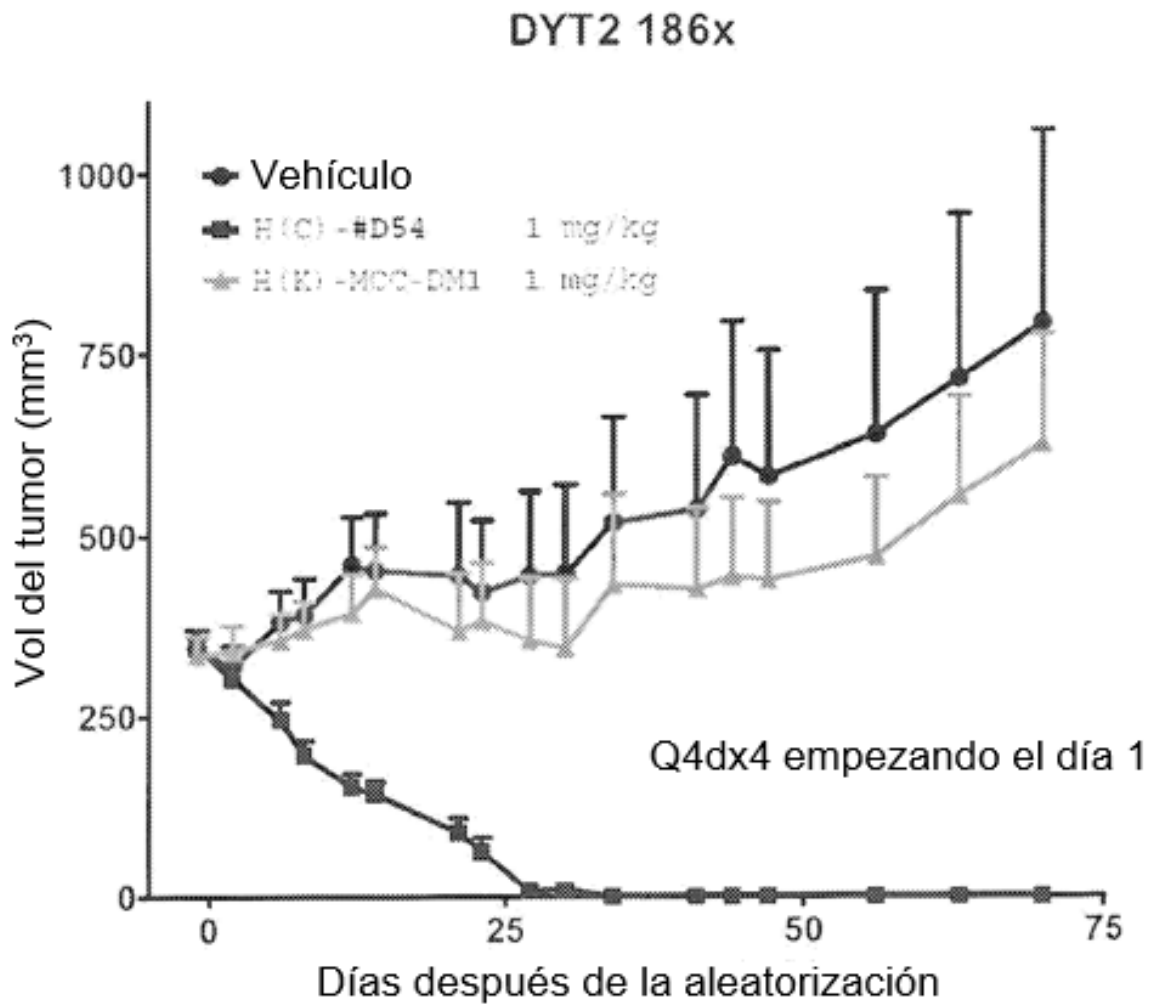


Figura 4B

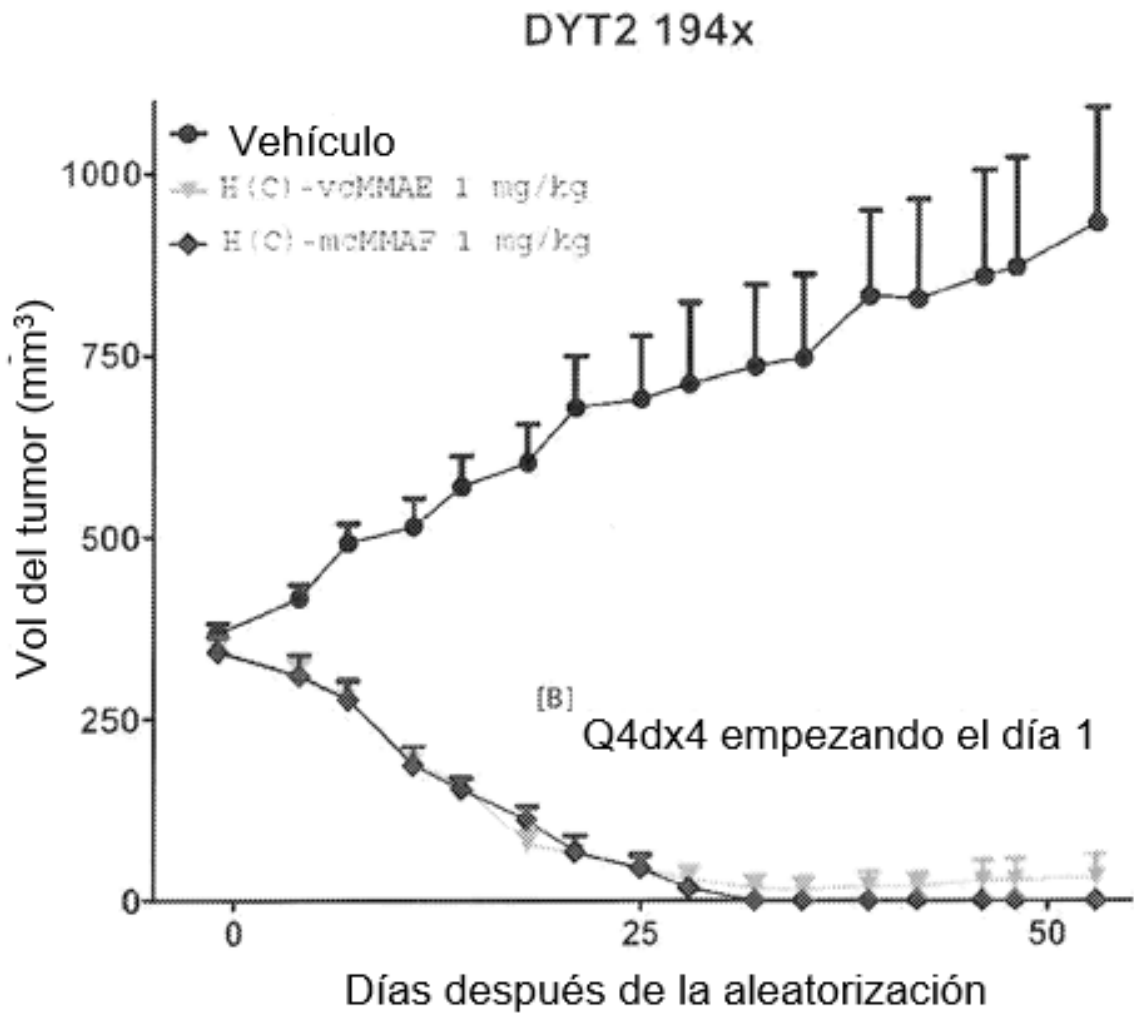
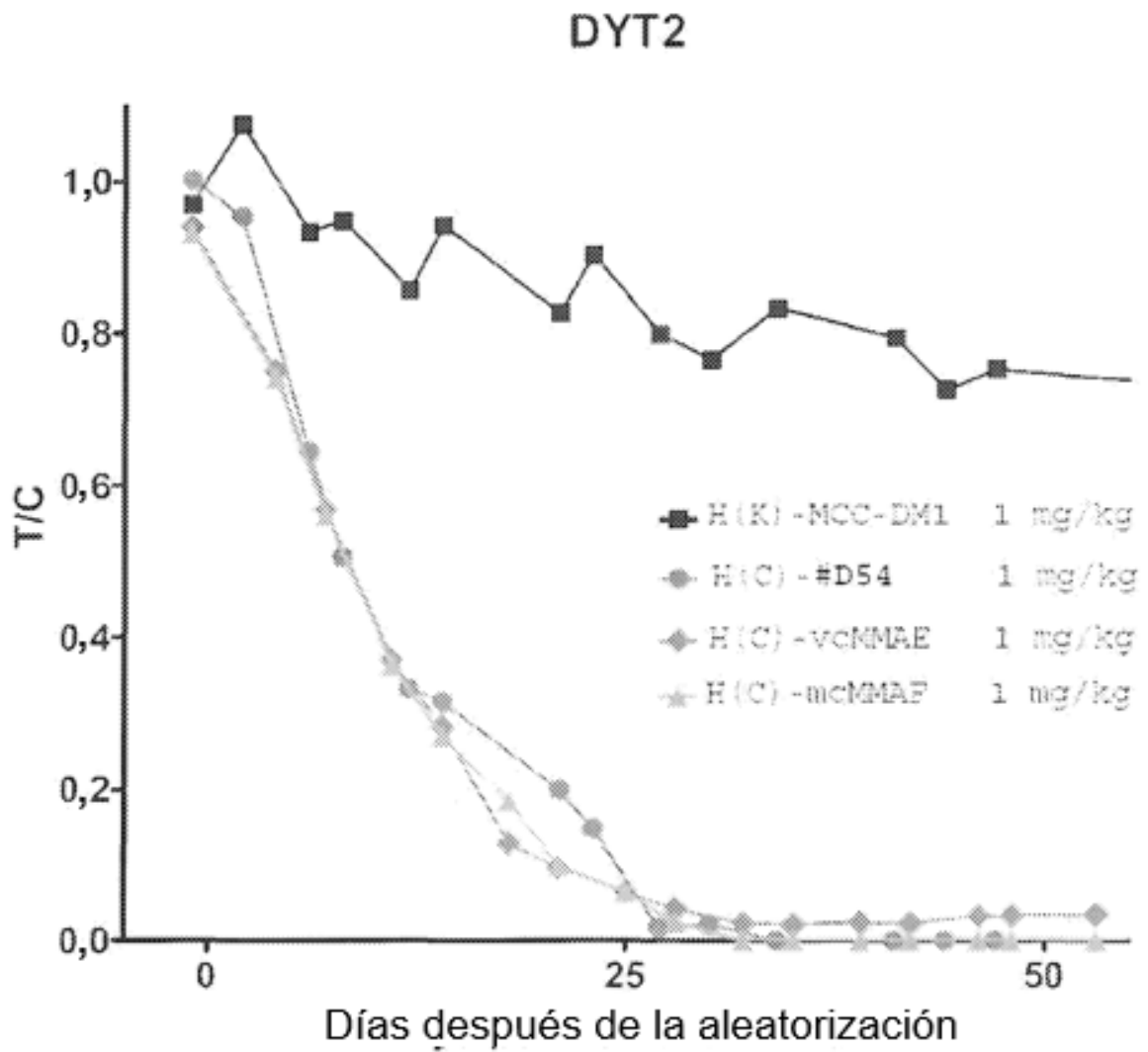
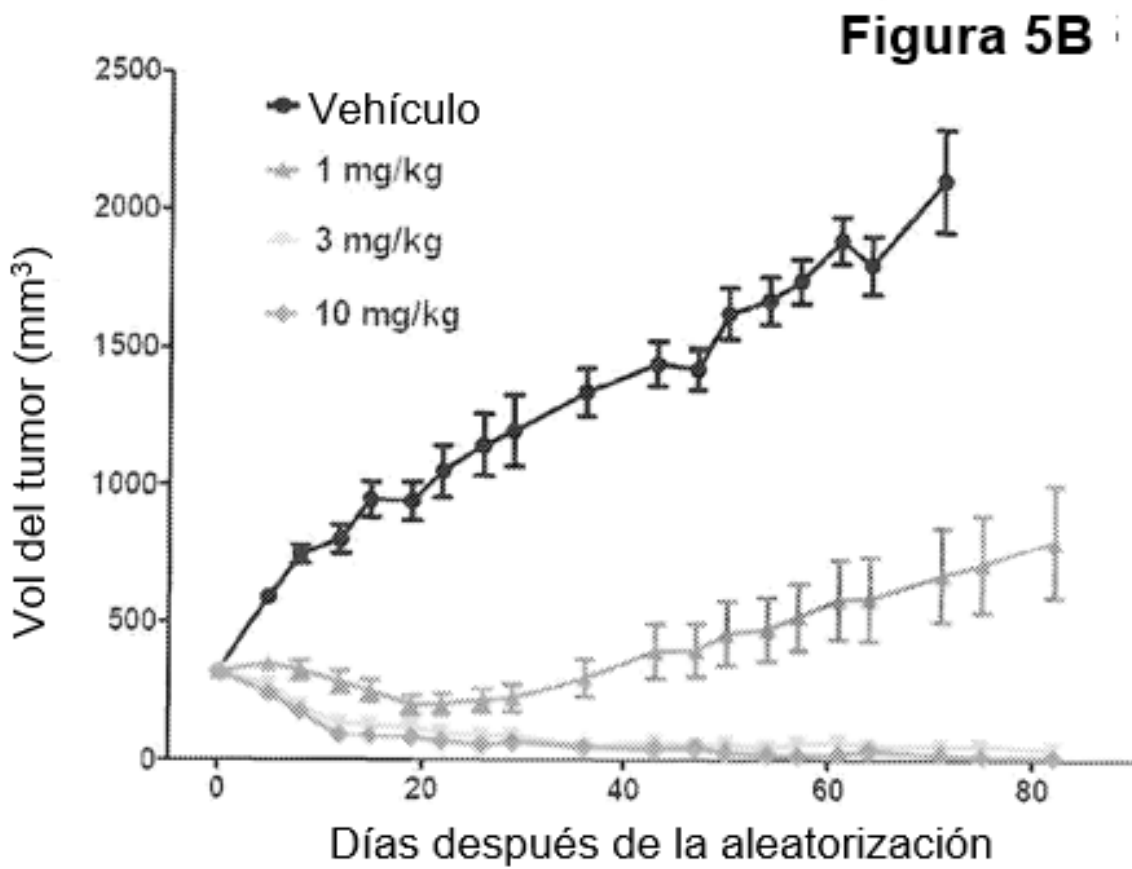
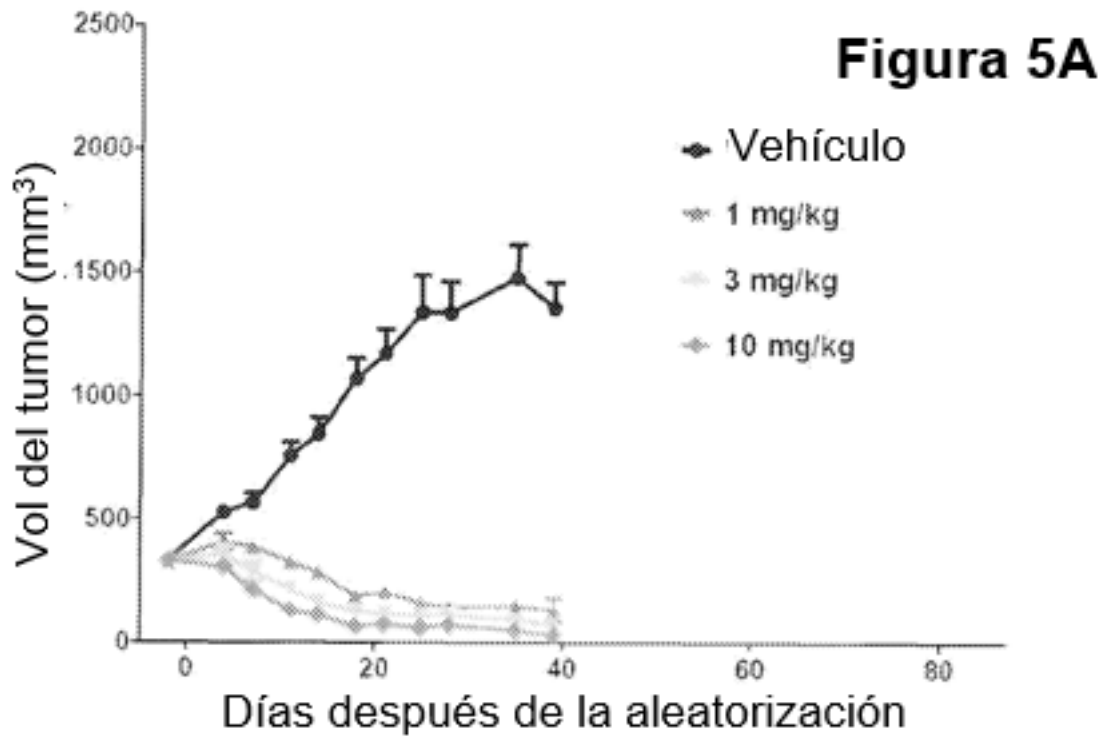
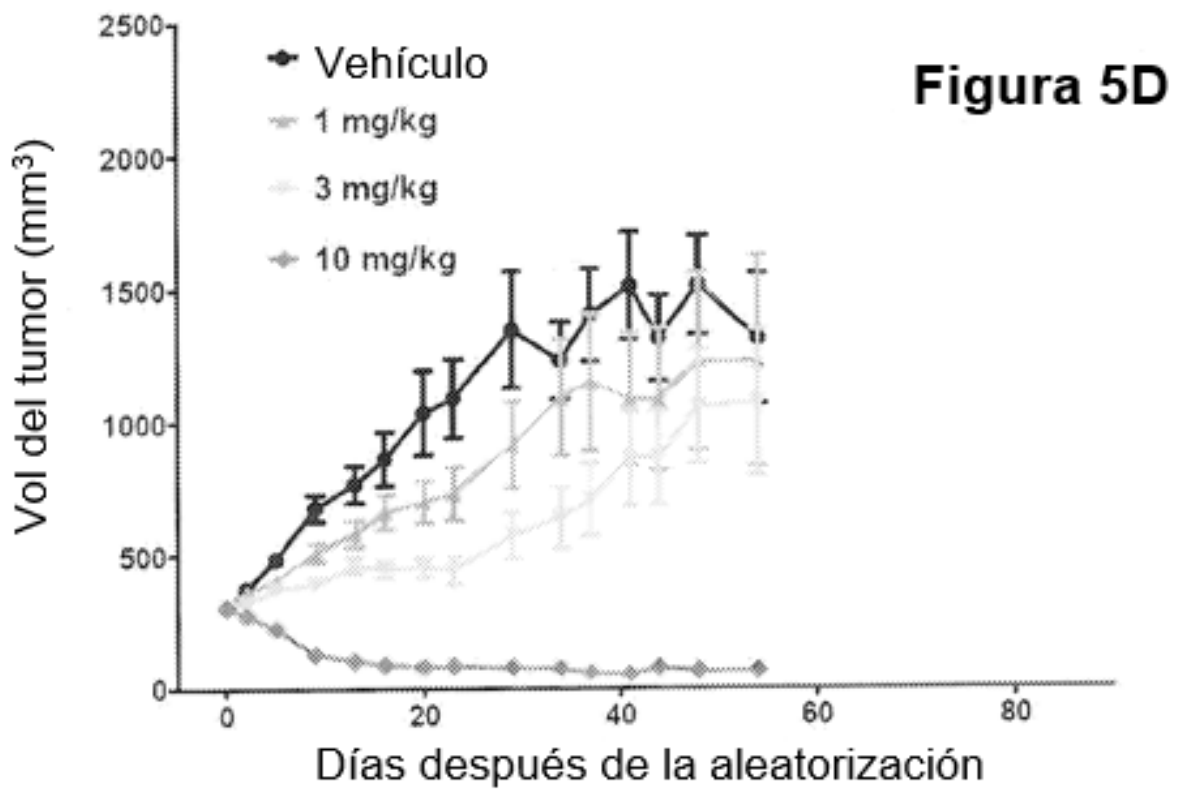
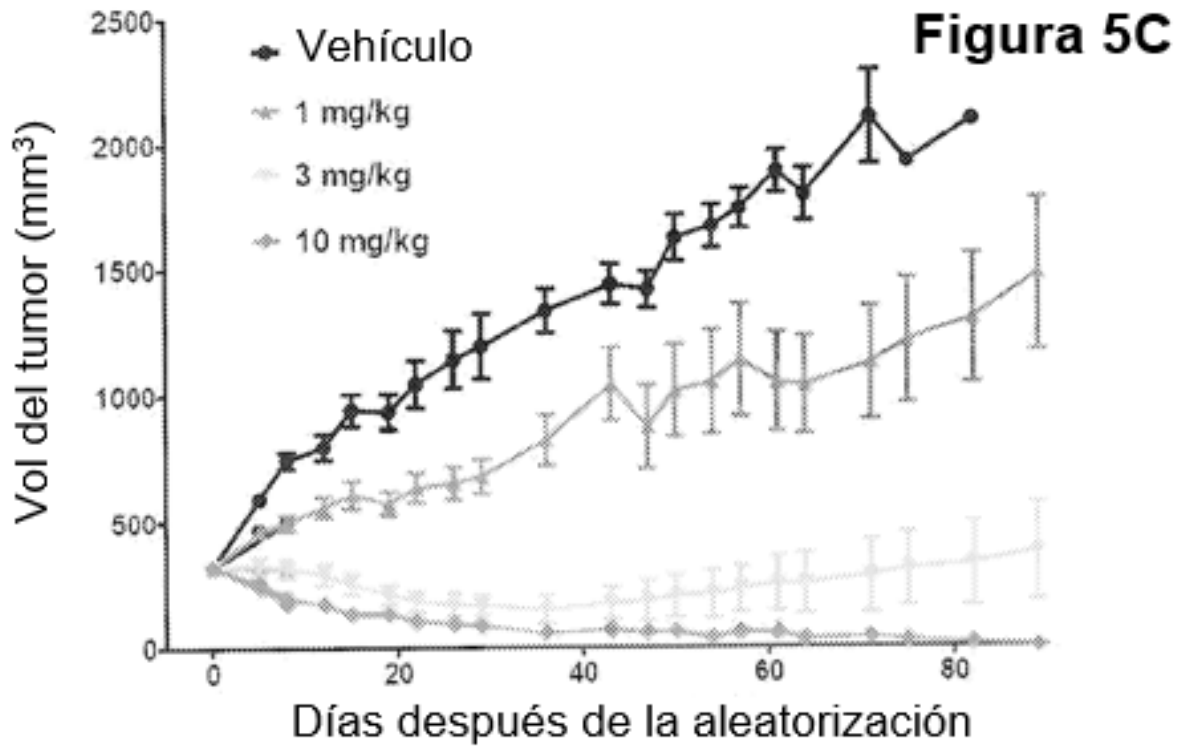


Figura 4C







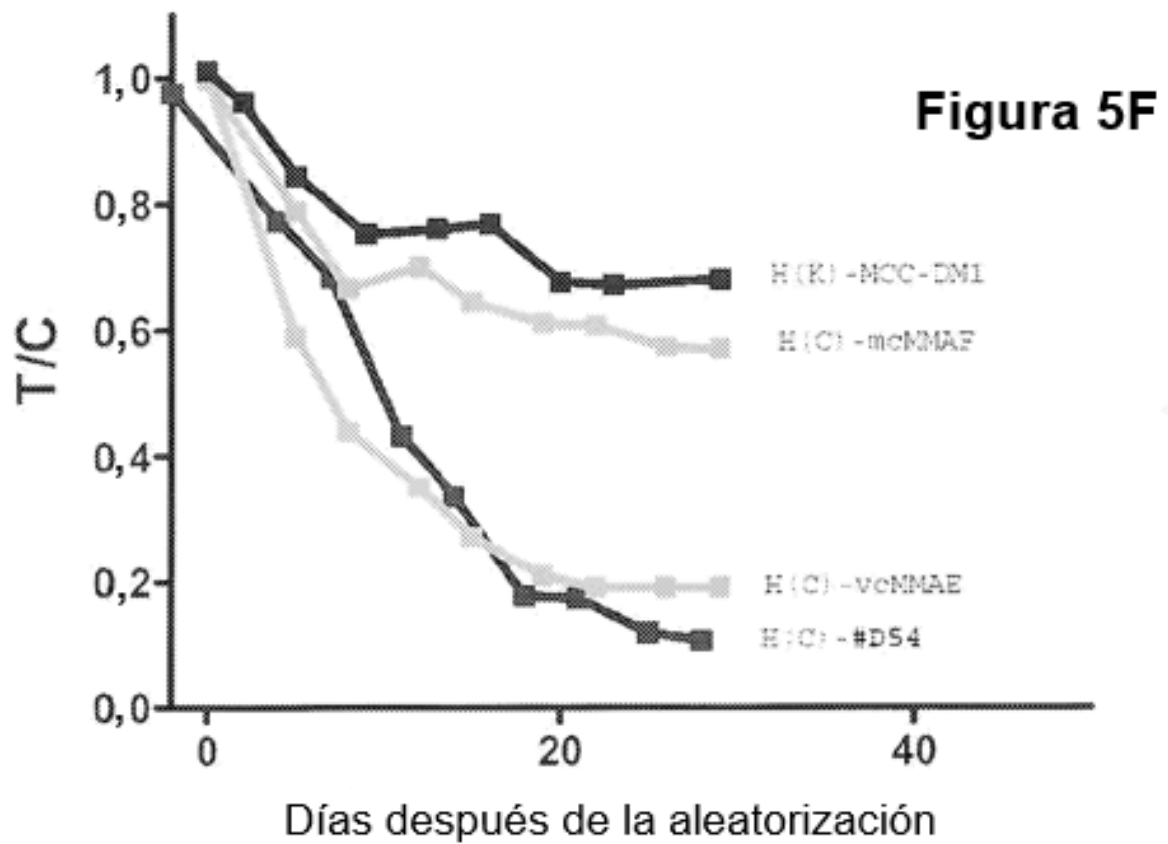
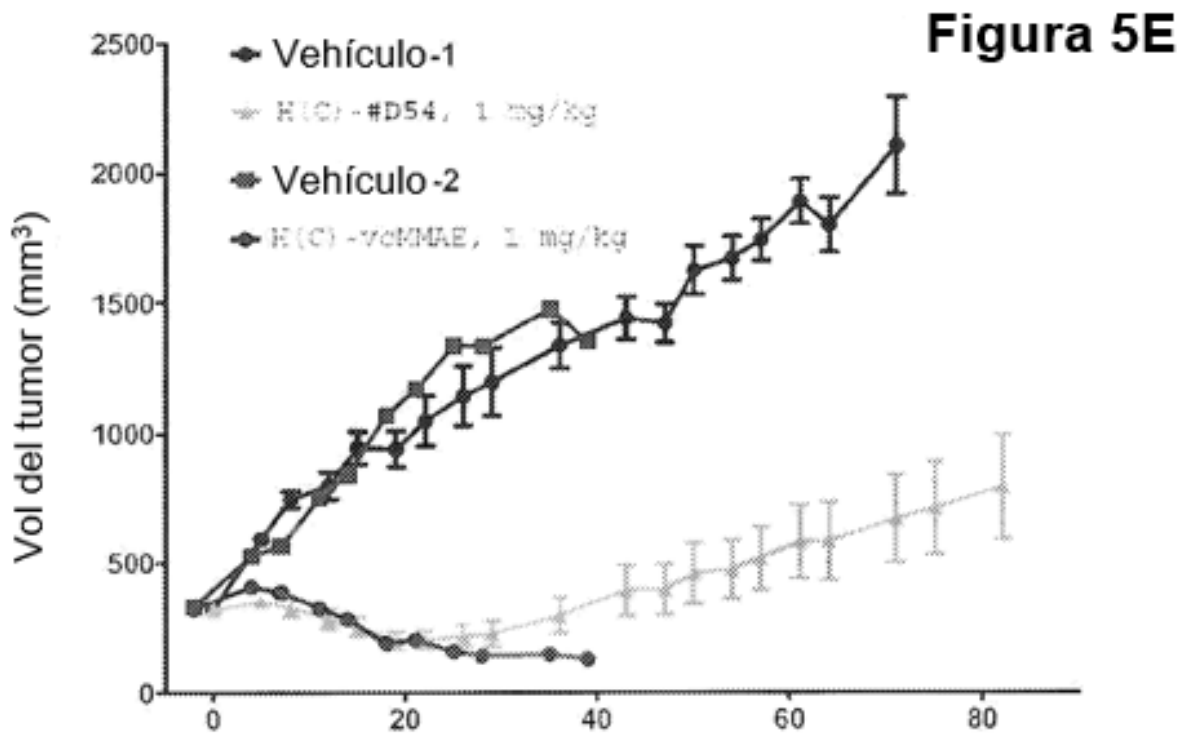


Figura 6

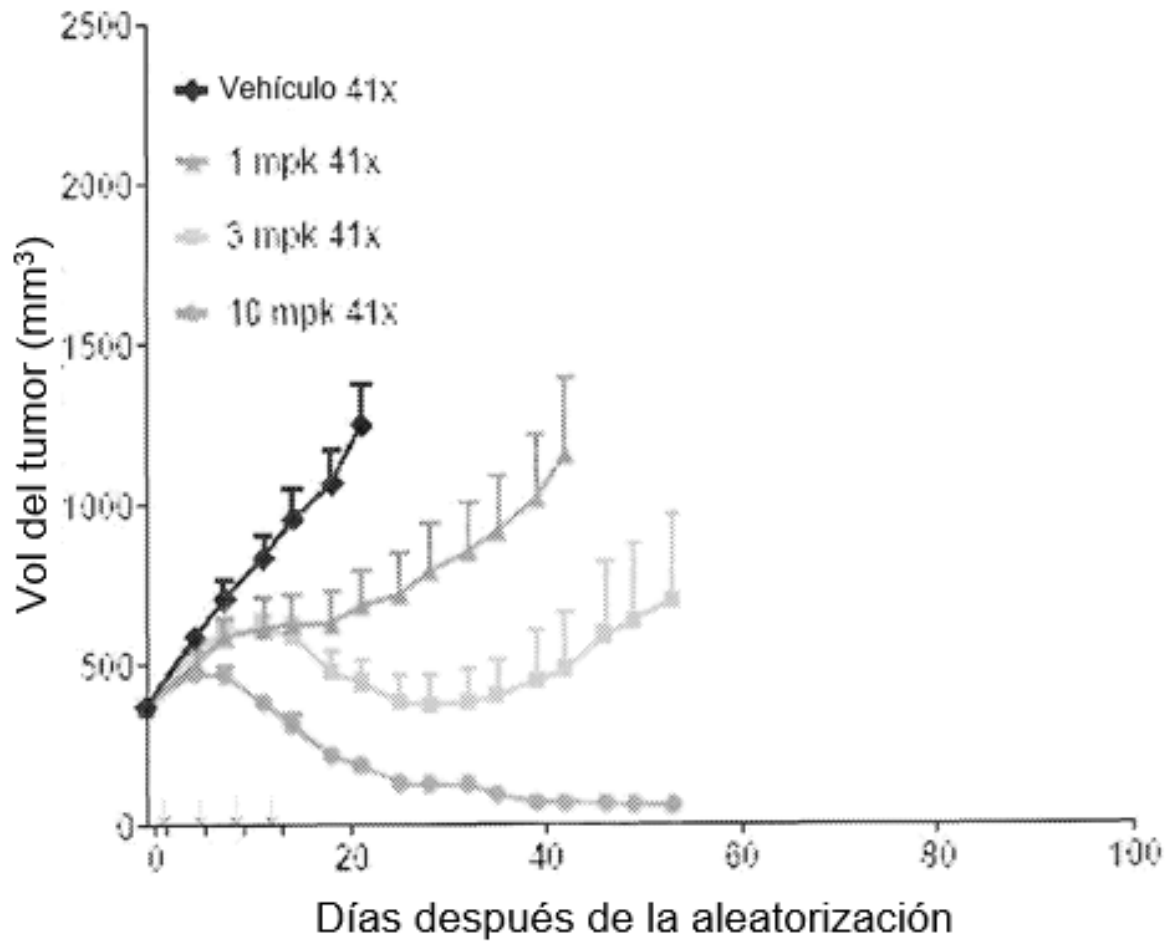


Figura 7

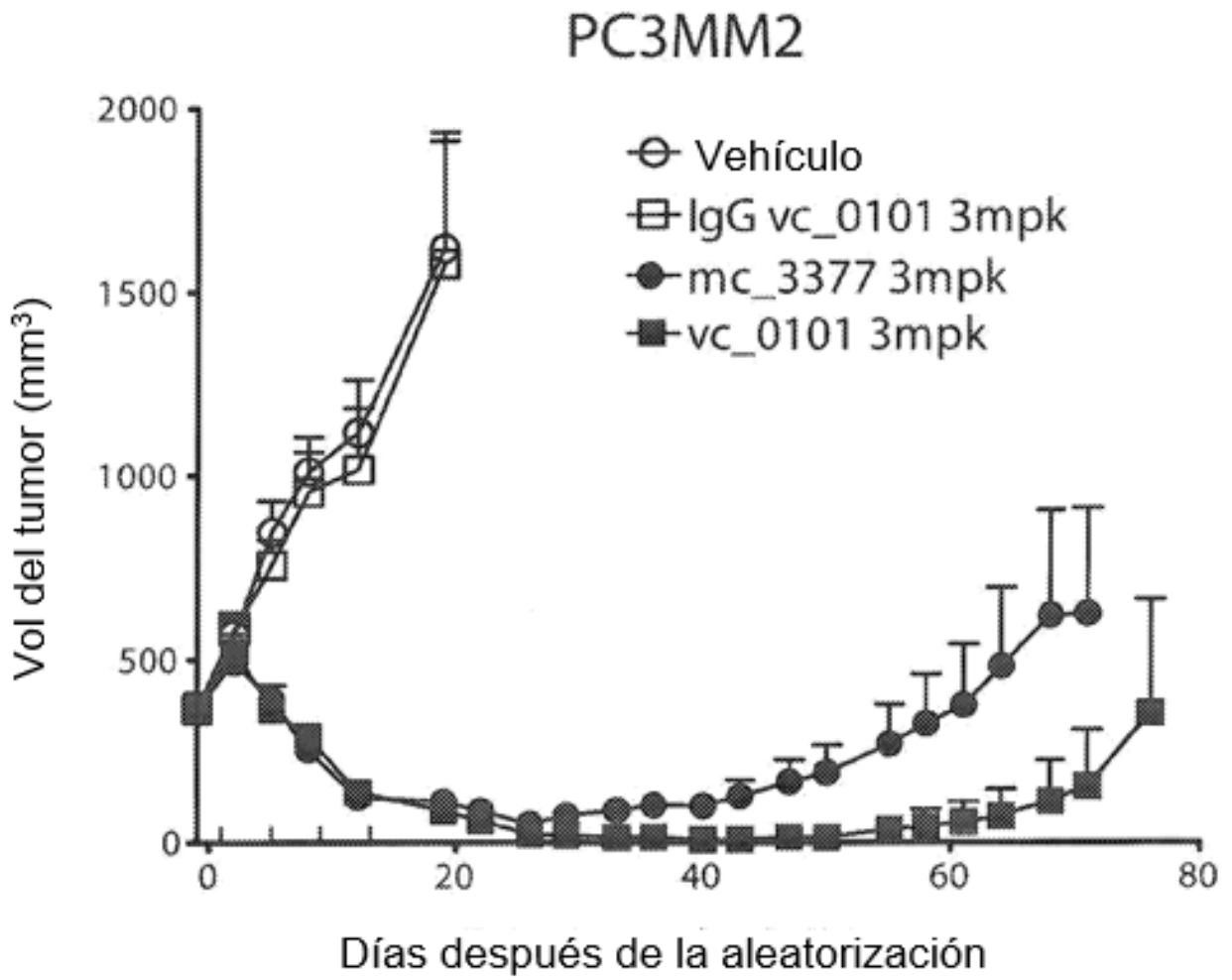


Figura 8A

Efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5mg/kg en xenoinjertos de pulmón HCC2429

Xenoinjertos de pulmón HCC2429, volumen del tumor (mm³ +/- SEM)

Día	PBS	ch28- mc0101	ch28- mc3377	ch28- mc0131	ch28- MALPEG6 C2-0131	ch75- mc0131	ch28- vc0101	ch28- vc6780	ch75- vc0101	ch75- vc6780	huNeg8.8 -mc0131	huNeg8.8 -mc3377	huNeg8.8 -mc0131	huNeg8.8 vc0101	huNeg8.8 -vc6780
-2	198 ±44	195 ±37	195 ±39	195 ±35	196 ±47	195 ±35	195 ±26	195 ±33	195 ±25	205 ±35	195 ±45	195 ±45	209 ±55	195 ±45	
2	503 ±106	457 ±73	525 ±101	483 ±96	505 ±128	483 ±96	395 ±54	378 ±77	450 ±48	420 ±66	500 ±127	500 ±119	560 ±136	516 ±117	
4	838 ±187	506 ±66	654 ±136	522 ±125	638 ±192	522 ±125	298 ±46	328 ±73	366 ±47	430 ±92	645 ±149	637 ±175	745 ±201	789 ±177	
6	1008 ±229	562 ±126	789 ±156	603 ±152	750 ±207	634 ±158	259 ±33	319 ±76	318 ±48	474 ±108	1117 ±213	919 ±243	1118 ±270	988 ±229	
9	1518 ±265	652 ±133	1186 ±253	787 ±177	1020 ±213	620 ±129	177 ±24	280 ±72	217 ±30	502 ±125	1773 ±284	1348 ±284	1508 ±394	1449 ±304	
11	1605± 2033± 228	761 ±166	1458 ±314	941 ±199	1392 ±257	737 ±162	189 ±22	290 ±77	198 ±30	603 ±155	1865 ±259	1608 ±259	1475 ±283	1582 ±316	
13	283	865 ±176	1634 ±339	1096 ±264	1599 ±274	802 ±184	122 ±15	283 ±88	166 ±33	755 ±166	2535 ±228	2257 ±350	1831 ±406	-	
16	-	917 ±207	-	949 ±190	1566 ±300	878 ±200	97 ±13	286 ±105	120 ±26	781 ±210	-	-	-	-	
19	-	1222 ±275	-	1322 ±276	1986 ±414	1051 ±247	85 ±14	484 ±171	102 ±28	770 ±153	-	-	-	-	
23	-	1694 ±401	-	-	-	1354 ±340	±25	±238	±25	±156	-	-	-	-	
26	-	-	-	-	-	-	77	636	64	1159	-	-	-	-	
30	-	-	-	-	-	-	109	535	36	1270	-	-	-	-	
33	-	-	-	-	-	-	±88	±290	±29	±205	-	-	-	-	
37	-	-	-	-	-	-	138	775	36	1626 ±30	-	-	-	-	
40	-	-	-	-	-	-	±128	±411	±34	9	-	-	-	-	
44	-	-	-	-	-	-	210	-	46	-	-	-	-	-	
51	-	-	-	-	-	-	±199	-	±45	-	-	-	-	-	
53	-	-	-	-	-	-	323	-	59	-	-	-	-	-	
65	-	-	-	-	-	-	±311	-	±57	-	-	-	-	-	
73	-	-	-	-	-	-	17	-	108	-	-	-	-	-	
79	-	-	-	-	-	-	±17	-	±107	-	-	-	-	-	
89	-	-	-	-	-	-	43	-	201	-	-	-	-	-	
96	-	-	-	-	-	-	±43	-	±200	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	±82	-	±40	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	±138	-	±60	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	301	-	±20	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	±391	-	±60	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	-	-	±60	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	-	-	±60	-	-	-	-	-	
	-	-	-	-	-	-	-	-	±60	-	-	-	-	-	

Figura 8B

Efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5 mg/kg en xenoinjertos de mama MDA-MB-468

Xenoinjertos de mama MDA-MB-468, volumen del tumor (mm ³ +/- SEM)											
Día	P5S	ch75- mic3377	ch75-mic0131	ch75-MALPEG6 C2-0131	ch75-mic0131	huNeg8.8- mic0131	huNeg8.8- mic3377	huNeg8.8- mic0131	huNeg8.8- mic3377	huNeg8.8- mic0131	huNeg8.8- mic3377
-1	303 ±10	304 ±19	303 ±18	308 ±22	305 ±14	306 ±14	302 ±15	306 ±14	302 ±15	306 ±14	306 ±15
2	344 ±14	315 ±26	348 ±21	375 ±16	354 ±7	340 ±16	363 ±25	340 ±16	363 ±25	343 ±26	343 ±26
5	380 ±17	339 ±25	339 ±16	305 ±23	346 ±14	349 ±19	366 ±31	349 ±19	366 ±31	349 ±19	349 ±19
8	439 ±28	340 ±20	352 ±21	346 ±27	368 ±15	437 ±35	431 ±25	437 ±35	431 ±25	421 ±36	421 ±36
12	533 ±41	337 ±22	311 ±26	372 ±31	350 ±18	492 ±27	449 ±30	492 ±27	449 ±30	486 ±41	486 ±41
15	542 ±40	304 ±23	291 ±22	271 ±18	322 ±22	543 ±42	484 ±28	543 ±42	484 ±28	523 ±35	523 ±35
19	608 ±46	234 ±20	228 ±25	204 ±20	283 ±19	552 ±37	516 ±28	552 ±37	516 ±28	542 ±45	542 ±45
22	644 ±34	240 ±20	216 ±26	156 ±21	261 ±22	622 ±38	581 ±28	622 ±38	581 ±28	586 ±47	586 ±47
26	707 ±56	266 ±22	169 ±14	127 ±14	252 ±25	616 ±45	604 ±34	616 ±45	604 ±34	654 ±52	654 ±52
29	785 ±72	278 ±33	191 ±19	119 ±15	285 ±27	701 ±53	641 ±42	701 ±53	641 ±42	685 ±57	685 ±57
33	822 ±78	320 ±45	203 ±23	133 ±22	315 ±31	735 ±80	737 ±57	735 ±80	737 ±57	759 ±66	759 ±66
36	840 ±87	308 ±53	220 ±18	119 ±20	320 ±30	788 ±55	835 ±54	788 ±55	835 ±54	788 ±81	788 ±81
40	894 ±80	346 ±51	276 ±39	143 ±20	367 ±41	882 ±90	946 ±77	882 ±90	946 ±77	853 ±102	853 ±102
44	1040 ±104	373 ±49	312 ±34	162 ±29	421 ±29	1080 ±109	1055 ±84	1080 ±109	1055 ±84	1082 ±82	1082 ±82
48	1174 ±146	458 ±69	382 ±68	193 ±31	455 ±42	1136 ±131	1148 ±92	1136 ±131	1148 ±92	1086 ±98	1086 ±98
51	1266 ±144	538 ±83	418 ±49	237 ±31	563 ±48	1301 ±127	1368 ±57	1301 ±127	1368 ±57	1184 ±98	1184 ±98
54	1204 ±155	543 ±80	422 ±45	240 ±37	592 ±55	1288 ±134	1321 ±96	1288 ±134	1321 ±96	1206 ±130	1206 ±130
57	1366 ±161	594 ±97	474 ±85	280 ±36	665 ±65	1380 ±151	1530 ±23	1380 ±151	1530 ±23	1132 ±102	1132 ±102
61	1492 ±129	659 ±100	497 ±80	275 ±36	690 ±52	1380 ±149	1607 ±39	1380 ±149	1607 ±39	-	-
64	-	718 ±117	519 ±93	363 ±45	758 ±64	1420 ±160	1580 ±47	1420 ±160	1580 ±47	-	-
68	-	872 ±152	636 ±117	368 ±48	864 ±65	1562 ±198	1550 ±71	1562 ±198	1550 ±71	-	-
71	-	897 ±151	705 ±102	377 ±65	-	-	-	-	-	-	-
78	-	-	906 ±137	511 ±74	-	-	-	-	-	-	-

Figura 8C

Efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5 mg/kg en xenoinjertos de mama MDA-MB-468

Día	PBS	Xenoinjertos de mama MDA-MB-468, volumen del tumor (mm ³ +/- SEM)													
		ch28- mc0131	ch28- mc3377	ch28- me0131	ch28- vc0101	ch28- vc0780	ch75- vc0101	ch75- vc0780	huNeg8.8- mc0131	huNeg8.8- mc3377	huNeg8.8- me0131	huNeg8.8- vc0101	huNeg8.8- vc0780		
-1	309 ±11	314 ±12	313 ±20	314 ±15	307 ±19	309 ±23	312 ±7	308 ±8	313 ±21	310 ±15	308 ±22	312 ±18	314 ±21		
4	396 ±12	358 ±19	321 ±20	329 ±19	337 ±16	323 ±20	328 ±21	341 ±17	353 ±27	333 ±19	358 ±27	333 ±18	379 ±18		
8	421 ±25	315 ±18	297 ±17	306 ±14	315 ±14	293 ±24	292 ±23	323 ±21	384 ±33	391 ±28	398 ±32	349 ±22	387 ±18		
11	452 ±31	262 ±15	237 ±15	258 ±12	321 ±22	237 ±17	219 ±16	305 ±25	422 ±33	408 ±31	422 ±40	350 ±35	426 ±21		
18	578 ±48	143 ±11	121 ±10	173 ±21	257 ±28	136 ±19	108 ±12	257 ±35	496 ±45	479 ±40	537 ±56	310 ±61	485 ±22		
21	815 ±46	107 ±9	119 ±10	145 ±19	214 ±27	138 ±23	70 ±10	232 ±43	499 ±47	569 ±101	572 ±86	275 ±72	546 ±64		
28	891 ±89	113 ±16	172 ±15	95 ±18	171 ±24	163 ±28	37 ±11	258 ±51	584 ±72	535 ±51	638 ±61	251 ±66	514 ±31		
35	835 ±87	131 ±25	191 ±20	148 ±33	236 ±29	176 ±33	26 ±9	340 ±64	662 ±101	772 ±82	772 ±114	279 ±99	737 ±65		
39	968 ±103	178 ±37	234 ±19	148 ±45	267 ±46	229 ±52	13 ±7	403 ±86	702 ±96	882 ±114	881 ±114	361 ±115	860 ±128		
42	1034 ±112	168 ±35	266 ±22	174 ±33	240 ±42	242 ±41	10 ±8	420 ±77	753 ±77	945 ±123	926 ±115	362 ±90	888 ±49		
46	1140 ±126	191 ±43	280 ±27	188 ±48	293 ±35	243 ±41	11 ±8	442 ±77	834 ±77	1015 ±148	930 ±152	377 ±101	965 ±102		
49	1211 ±92	233 ±56	333 ±33	207 ±45	334 ±46	295 ±52	7 ±7	495 ±86	896 ±90	1114 ±150	1133 ±171	439 ±115	1038 ±128		
57	1402 ±112	298 ±67	447 ±37	272 ±59	400 ±53	369 ±65	13 ±13	652 ±110	1093 ±106	1350 ±180	1329 ±175	577 ±155	1275 ±143		
60	-	328 ±69	513 ±42	335 ±67	472 ±59	373 ±61	25 ±16	688 ±118	1168 ±97	1295 ±158	1187 ±161	483 ±88	1161 ±77		
63	-	320 ±70	516 ±44	354 ±67	498 ±58	415 ±76	21 ±14	769 ±114	1092 ±113	1379 ±137	1332 ±160	579 ±148	1270 ±93		
67	-	319 ±85	538 ±49	371 ±77	563 ±63	462 ±94	21 ±15	798 ±136	1203 ±121	-	-	655 ±165	-		
74	-	434 ±66	682 ±57	382 ±47	665 ±74	499 ±91	42 ±27	928 ±143	-	-	-	715 ±206	-		
77	-	470 ±113	-	423 ±42	-	-	45 ±26	-	-	-	-	-	-		
84	-	-	-	-	-	-	67 ±37	-	-	-	-	-	-		
98	-	-	-	-	-	-	55 ±37	-	-	-	-	-	-		
104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
117	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
126	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

Figura 8D

Efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5mg/kg en xenoinjertos gástricos

Día	PBS	Xenoinjertos gástricos N87, volumen del tumor (mm ³ +/- SEM)									
		Def28-mc0131	ch28-vc0101	ch28-vc0780	ch75-vc0101	ch75-vc0780	huNeg8.8-vc0101	huNeg8.8-vc0780	huNeg3.8-vc0101	huNeg3.8-vc0780	
-1	388 ±16	391 ±11	394 ±16	388 ±17	391 ±8	385 ±18	394 ±18	393 ±16	393 ±16	393 ±16	
3	815 ±48	669 ±35	558 ±20	484 ±72	596 ±39	631 ±31	722 ±63	711 ±31	711 ±31	711 ±31	
6	907 ±56	583 ±41	488 ±48	522 ±41	611 ±27	672 ±40	745 ±76	733 ±43	733 ±43	733 ±43	
11	1336 ±67	623 ±50	313 ±28	416 ±48	437 ±29	588 ±74	818 ±112	1019 ±56	1019 ±56	1019 ±56	
14	1260 ±85	452 ±45	208 ±21	297 ±52	275 ±18	447 ±87	771 ±124	988 ±88	988 ±88	988 ±88	
18	1393 ±101	466 ±55	183 ±20	285 ±65	228 ±17	419 ±91	727 ±167	997 ±83	997 ±83	997 ±83	
21	1701 ±117	528 ±61	189 ±25	314 ±80	221 ±28	462 ±121	775 ±180	1202 ±156	1202 ±156	1202 ±156	
25	-	531 ±72	194 ±30	305 ±84	224 ±44	430 ±131	579 ±117	1151 ±119	1151 ±119	1151 ±119	
28	-	579 ±78	173 ±26	291 ±88	230 ±56	427 ±133	570 ±137	1247 ±160	1247 ±160	1247 ±160	
31	-	597 ±75	176 ±32	349 ±110	256 ±62	458 ±148	646 ±148	1310 ±160	1310 ±160	1310 ±160	
36	-	671 ±89	114 ±45	380 ±121	326 ±72	493 ±177	685 ±186	1465 ±237	1465 ±237	1465 ±237	
39	-	762 ±98	256 ±53	406 ±133	416 ±109	514 ±190	791 ±186	-	-	-	
46	-	873 ±115	279 ±58	493 ±158	549 ±156	603 ±226	912 ±248	-	-	-	
50	-	1020 ±149	341 ±80	573 ±179	630 ±187	806 ±285	-	-	-	-	
55	-	1055 ±153	374 ±83	560 ±174	715 ±207	600 ±238	-	-	-	-	
62	-	1193 ±207	379 ±85	653 ±204	806 ±263	649 ±254	-	-	-	-	
69	-	-	490 ±106	773 ±254	-	788 ±313	-	-	-	-	
77	-	-	534 ±126	720 ±269	-	-	-	-	-	-	
83	-	-	627 ±156	-	-	-	-	-	-	-	
90	-	-	813 ±197	-	-	-	-	-	-	-	
96	-	-	903 ±207	-	-	-	-	-	-	-	
101	-	-	901 ±213	-	-	-	-	-	-	-	

Figura 8E

Efectividad de ADC anti-Notch quiméricos de rata-humano dosificados a 5mg/kg en xenoinjertos gástricos N87.

Día	Xenoinjertos gástricos N87, volumen del tumor (mm ³ +/- SEM)				
	PBS	ch28-mc0131	ch28-m(H2O)c-0131	ch75-mc0131	ch75-m(H2O)c-0131
-1	372 ±8	371 ±18	371 ±17	364 ±12	373 ±15
4	589 ±28	473 ±41	469 ±41	461 ±33	497 ±34
7	706 ±56	479 ±39	446 ±34	466 ±28	484 ±35
11	837 ±71	442 ±37	391 ±29	468 ±33	414 ±28
14	959 ±98	395 ±43	303 ±24	430 ±33	337 ±20
18	1069 ±106	323 ±36	231 ±27	424 ±41	279 ±14
21	1252 ±123	337 ±48	232 ±29	448 ±42	268 ±13
25	1230 ±112	324 ±55	230 ±38	422 ±45	271 ±11
28	1352 ±132	363 ±62	256 ±41	487 ±52	266 ±17
32		381 ±66	255 ±49	530 ±56	298 ±22
35		419 ±85	283 ±52	541 ±56	307 ±21
39		453 ±87	315 ±65	570 ±55	358 ±23
42		522 ±108	347 ±71	619 ±66	388 ±34
46		559 ±119	381 ±87	629 ±68	432 ±41
49		637 ±139	418 ±96	697 ±87	447 ±48
53		681 ±149	441 ±107	756 ±91	484 ±52
56		713 ±167	479 ±113	753 ±90	512 ±55
63		783 ±192	542 ±139	869 ±112	563 ±70
70		847 ±219	535 ±148	827 ±107	579 ±86
77		1081 ±273	726 ±191	1041 ±139	788 ±110
84			655 ±230	1172 ±165	872 ±131
91			722 ±194	1332 ±194	1015 ±169
98			757 ±204	1125 ±198	1125 ±198