LIGANDOS DE INTEGRINA Y USOS DE ESTOS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[0001] Esta solicitud reivindica la prioridad sobre la Solicitud provisoria de Patente de los Estados Unidos n.º 62/580.398, presentada el 1 de noviembre de 2017; la Solicitud provisoria de Patente de los Estados Unidos n.º 62/646.739, presentada el 22 de marzo de 2018; y la Solicitud provisoria de Patente de los Estados Unidos n.º 62/679.549, presentada el 1 de junio de 2018, cuyo contenido se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

ANTECEDENTES

[0002] La integrina alfa-v beta-6 (αvβ6), que se expresa en varios tipos de células, incluidas las células epiteliales, es un receptor para el péptido asociado a la latencia (LAP) de TGF-β y para las proteínas de la matriz extracelular (ECM) fibronectina, vitronectina y tenascina. Aunque apenas se puede detectar en epitelios adultos sanos normales, la integrina αvβ6 se regula de manera ascendente durante la cicatrización de heridas y en diferentes tipos de cáncer (p. ej., cáncer de colon, ovario, endometrio y cáncer gástrico), y a menudo se asocia con un mal pronóstico del cáncer. Se ha demostrado que la integrina αvβ6 puede promover la invasión y migración celular en la metástasis e inhibir la apoptosis. La integrina αvβ6 también puede regular la expresión de metaloproteasas de matriz (MMP) y activar TGF-β1. Cada vez hay más evidencia, principalmente de estudios *in vitro*, que indica que la integrina αvβ6 puede promover la progresión del carcinoma. Por lo tanto, la integrina αvβ6 es atractiva como biomarcador tumoral y objetivo terapéutico potencial debido a, entre otras cosas, su función en la expresión de metaloproteasas de matriz (MMP) y la activación de TGF-β1.

[0003] El suministro *in vivo* de compuestos terapéuticamente efectivos, tales como compuestos farmacológicos, a las células y/o tejidos deseados, sigue siendo un desafío general para el desarrollo de productos farmacéuticos. Sigue existiendo la necesidad de ligandos de direccionamiento estables y efectivos que

sean capaces de dirigirse selectivamente a células o tejidos, que pueden emplearse para facilitar el suministro dirigido de moléculas de carga (p. ej., un compuesto o ingrediente terapéuticamente activo) a células o tejidos específicos. De hecho, existe una necesidad general de dirigir ligandos que puedan conjugarse con una o más moléculas de carga de elección, tales como uno o más productos farmacéuticos u otras cargas útiles, para facilitar el suministro de las moléculas de carga a las células o tejidos deseados *in vivo*. Además, existe la necesidad de compuestos que se dirijan a la integrina alfa-v beta-6, que sean adecuados para conjugarse con moléculas de carga, para suministrar las moléculas de carga a las células que expresan la integrina alfa-v beta-6, *in vivo*. Con respecto a las moléculas de carga específicas, como los compuestos basadosen oligonucleótidos terapéuticos (p. ej., un oligonucleótido antisentido o un agente de ARNi), existe la necesidad de dirigirse a ligandos que puedan dirigirse a la integrina alfa-v beta-6 que pueda conjugarse con compuestos basados en oligonucleótidos para administrar el agente terapéutico a las células y/o tejidos que expresan la integrina alfa-v beta-6, y facilitar la entrada del agente terapéutico en la célula a través de la endocitosis mediada por receptor, la pinocitosis o por otros medios.

SÍNTESIS

[0004] En la presente se describen ligandos de integrina αvβ6 sintéticos nuevos (también denominados en la presente ligandos αvβ6). Los ligandos de integrina αvβ6 divulgados aquí son estables en suero y tienen afinidad por, y pueden unirse con especificidad a, integrinas αvβ6. Los ligandos de integrina αvβ6 se pueden conjugar con moléculas de carga para facilitar el suministro de la molécula de carga a las células o tejidos deseados que expresan la integrina αvβ6, tales como las células epiteliales.

[0005] También se describen en la presente métodos de suministro de una molécula de carga a un tejido y/o célula que expresa la integrina αvβ6 in *vivo,*

donde los métodos incluyen la administración a un sujeto de uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente que se han conjugado con una o más moléculas de carga. Además, se describen métodos de tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad, síntoma o trastorno para el cual el suministro de una molécula de carga terapéutica (p. ej., un ingrediente farmacéutico activo) a una célula que expresa la integrina αvβ6 es capaz de tratar al sujeto, donde los métodos incluyen administrar a un sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí que se han conjugado con una o más moléculas de carga terapéuticas.

[0006] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula, donde los métodos incluyen administrar a la célula una cantidad efectiva de uno o más ligandos de integrina αvβ6 que se han conjugado a uno o más compuestos basados en oligonucleótidos (p. ej., un agente terapéutico basado en oligonucleótidos) capaz de inhibir la expresión de un gen diana en una célula, como un agente de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula de un sujeto, donde el sujeto recibe una cantidad efectiva de uno o más ligandos de integrina αvβ6 que se han conjugado a uno o más compuestos basados en oligonucleótidos capaces de inhibir la expresión de un gen diana en una célula, como un agente de ARNi.

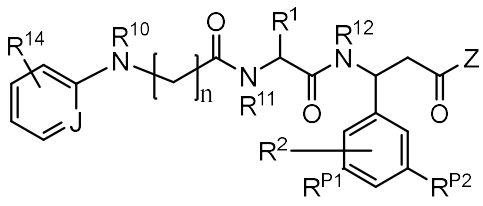
[0007] Además, se describen en la presente composiciones que incluyen ligandos de integrina αvβ6. Las composiciones descritas en la presente pueden ser composiciones farmacéuticas que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente conjugados a una o más sustancias terapéuticas, tales como un agente de ARNi u otra molécula de carga.

[0008] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos de tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno mediado al menos en parte por la expresión de un gen diana, donde los métodos incluyen administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de una composición

farmacéutica, donde la composición farmacéutica incluye uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí conjugados con uno o más compuestos basados en oligonucleótidos, tales como un agente de ARNi.

[0009] En un primer aspecto, esta divulgación proporciona ligandos de integrina αvβ6 sintéticos.

[0010] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente incluye la estructura de la siguiente fórmula:



(Fórmula I),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 0 a 7;

J es C-H o N;

Z es OR^{13}, $N(R^{13})_2$ o SR^{13};

R^1 es H, opcionalmente sustituido con C_1-C_6 alquilo, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6, o R^1 comprende una molécula de carga, donde cada R^5 es independientemente H o C_1-C_6 alquilo, y R^6 es H o C_1-C_6 alquilo;

R^2, R^{P1} y R^{P2} son cada uno de manera independiente H, halo, cicloalquileno sustituido opcionalmente, arileno sustituido opcionalmente, heterocicloalquileno sustituido opcionalmente o heteroarileno sustituido opcionalmente, o R^2, R^{P1} y R^{P2} pueden comprender una molécula de carga;

R^{10} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{11} es H o alquilo opcionalmente sustituido, o R^{11} y R^1 junto con los átomos a los que están unidos forman un heterociclo opcionalmente sustituido;

R^{12} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

cada R^{13} es independientemente H, alquilo opcionalmente sustituido, o R^{13} comprende una molécula de carga;

R^{14} es alquilo opcionalmente sustituido; y

donde al menos uno de R^1, R^2, R^{13}, R^{P1} y R^{P2} comprende una molécula de carga.

[0011] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente puede conjugarse con uno o más (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30; o 1 a 30, 1 a 25, 1 a 20, 1 a 15, 1 a 10, 1 a 5, 5 a 30, 5 a 25, 5 a 20, 5 a 15, 5 a 10, 10 a 30, 10 a 25, 10 a 20, 10 a 15, 15 a 30, 15 a 25, 15 a 20, 20 a 30, 20 a 25, o 25 a 30) moléculas de carga (p. ej. cualquiera de las moléculas de carga descritas en la presente o conocidas en la técnica).

[0012] En algunas realizaciones, más de un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 1 a 8, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4, 2 a 3, 3 a 8, 3 a 7, 3 a 6, 3 a 5, 3 a 4, 4 a 8, 4 a 7, 4 a 6 o 4 a 5 ligandos de integrina αvβ6) puede conjugarse con una o más moléculas de carga (p. ej. cualquiera de las moléculas de carga descritas en la presente o conocidas en la técnica).

[0013] En otro aspecto, esta divulgación proporciona composiciones que incluyen uno o más de los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí. Por ejemplo, en algunas realizaciones, las composiciones que comprenden uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente incluyen uno o más compuestos basadosen oligonucleótidos, tales como uno o más agentes de ARNi, para administrarse a una célula *in vivo*. En algunas realizaciones, se describen composiciones para administrar un agente de ARNi a una célula *in vivo*, donde el agente de ARNi está unido a uno o más ligandos de integrina αvβ6.

[0014] Se describen composiciones que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6. En algunas realizaciones, una composición comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, una

composición que incluye uno o más ligandos de integrina αvβ6 comprende una o más otras sustancias farmacéuticas o ingredientes o compuestos farmacéuticamente activos. En algunas realizaciones, se describen en la presente medicamentos que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6.

[0015] Las composiciones que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente conjugados con una o más moléculas de carga pueden facilitar el suministro de moléculas de carga *in vivo* o *in vitro* a las células que expresan la integrina αvβ6. Por ejemplo, las composiciones que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente pueden administrar moléculas de carga, tales como compuestos basados en oligonucleótidos, *in vivo o in vitro*, a células epiteliales alveolares de tipo I y II, células caliciformes, células epiteliales secretoras, células epiteliales ciliadas, células epiteliales corneales y conjuntivales, células epiteliales dérmicas, colangiocitos, enterocitos, células epiteliales ductales, células epiteliales glandulares y tumores epiteliales (carcinomas).

[0016] En otro aspecto, la presente descripción proporciona métodos que comprenden el uso de uno o más ligandos y/o composiciones de integrina αvβ6 como se describe en la presente y, si se desea, convertir los ligandos y/o composiciones de integrina αvβ6 descritos en una forma adecuada para la administración como producto farmacéutico. En otras realizaciones, la divulgación proporciona métodos para la fabricación de los ligandos y composiciones, p. ej., medicamentos, descritos aquí.

[0017] Las composiciones que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6 se pueden administrar a sujetos *in vivo* mediante vías de administración conocidas en la técnica que son adecuadas para dicha administración en vista de la molécula de carga que se busca administrar, que incluye, por ejemplo, administración por inhalación (formulaciones de aerosol o polvo seco), intranasal, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, intradérmica, transdérmica, oral, sublingual, tópica o intratumoral. En algunas realizaciones, las

composiciones que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6 pueden administrarse por vía sistémica, por ejemplo, intravenosa o subcutánea. En algunas realizaciones, las composiciones que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6 pueden administrarse para administración localizada, por ejemplo, por inhalación a través de un inhalador de polvo seco o un nebulizador. En algunas realizaciones, las composiciones que incluyen uno o más ligandos de integrina αvβ6 pueden administrarse para administración localizada por administración tópica.

[0018] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial alveolar de tipo I *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0019] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial alveolar de tipo II *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0020] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula caliciforme *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0021] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial secretora *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0022] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial ciliada *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0023] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial corneal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0024] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial conjuntival *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0025] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial dérmica *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0026] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a un colangiocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0027] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a un enterocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0028] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial ductal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0029] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a una célula epitelial glandular *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0030] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar una o más moléculas de carga deseadas a un tumor epitelial (carcinoma) *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a una o más moléculas de carga.

[0031] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial alveolar de tipo I *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial alveolar de tipo I *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial alveolar de tipo I *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0032] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial alveolar de tipo II *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial alveolar de tipo II *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial alveolar de tipo II *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0033] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula caliciforme *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula caliciforme *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula caliciforme *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0034] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial secretora *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial secretora *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial secretora *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0035] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial ciliada *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos

para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial ciliada *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial ciliada *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0036] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial corneal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial corneal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial corneal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0037] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial conjuntival *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial conjuntival *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial conjuntival *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al

sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0038] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial dérmica *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial dérmica *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial dérmica *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0039] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a un colangiocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a un colangiocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en un colangiocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0040] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a un enterocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos.

En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a un enterocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en un enterocito *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0041] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial ductal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial ductal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial ductal *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0042] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a una célula epitelial glandular *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a una célula epitelial glandular *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial glandular *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al

sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0043] En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un compuesto basado en oligonucleótidos a un tumor epitelial (carcinoma) *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más compuesto basado en oligonucleótidos. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para administrar un agente de ARNi a un tumor epitelial (carcinoma) *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto uno o más ligandos de integrina αvβ6 conjugados a uno o más agentes de ARNi. En algunas realizaciones, se describen en la presente métodos para inhibir la expresión de un gen diana en un tumor epitelial (carcinoma) *in vivo*, donde los métodos incluyen administrar al sujeto un agente de ARNi conjugado a uno o más ligandos que tienen afinidad por la integrina αvβ6.

[0044] A menos que se defina de modo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo sentido que entiende comúnmente una persona con experiencia en la técnica a la cual pertenece esta divulgación. A pesar de que métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente se pueden usar en la práctica o ensayos en la presente invención, los métodos y materiales apropiados se describen más abajo. Todas las publicaciones, solicitudes de patentes, patentes y otras referencias mencionadas en la presente se incorporan por referencia en su totalidad. En caso de conflicto, prevalecerá la presente memoria descriptiva, incluidas las definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

[0045] Otros objetos, características, aspectos y ventajas de la invención serán evidentes en la siguiente descripción detallada y en las reivindicaciones.

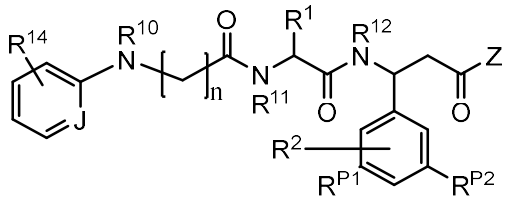
DESCRIPCIÓN DETALLADA

Ligandos de integrina αvβ6

[0046] En la presente se describen ligandos de integrina αvβ6 sintéticos que tienen estabilidad y afinidad en suero para la integrina αvβ6. Los ligandos de integrina αvβ6 pueden usarse para dirigirse a células que expresan integrina αvβ6 in *vitro, in situ, ex vivo* y/o *in vivo*. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente pueden conjugarse con una o más moléculas de carga para dirigir preferentemente las moléculas de carga a células que expresan la integrina αvβ6 in *vitro, in situ, ex vivo* y/o *in vivo*. En algunas realizaciones, las moléculas de carga incluyen o consisten en compuestos farmacéuticamente activos. En algunas realizaciones, las moléculas de carga incluyen o consisten en compuestos basados en oligonucleótidos, tales como agentes de ARNi. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente se conjugan con moléculas de carga para dirigir las moléculas de carga a células epiteliales in vivo.

[0047] En un primer aspecto, esta divulgación proporciona ligandos de integrina αvβ6 sintéticos.

[0048] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente incluye la estructura de la siguiente fórmula:



(Fórmula I),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 0 a 7;

J es C-H o N;

Z es OR^{13}, $N(R^{13})_2$ o SR^{13};

R^1 es H, opcionalmente sustituido con C_1-C_6 alquilo, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6, o R^1 comprende una molécula de carga, donde cada R^5 es independientemente H o C_1-C_6 alquilo, y R^6 es H o C_1-C_6 alquilo;

R^2, R^{P1} y R^{P2} son cada uno de manera independiente H, halo, cicloalquileno sustituido opcionalmente, arileno sustituido opcionalmente, heterocicloalquileno sustituido opcionalmente o heteroarileno sustituido opcionalmente, o R^2, R^{P1} y R^{P2} pueden comprender una molécula de carga;

R^{10} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{11} es H o alquilo opcionalmente sustituido, o R^{11} y R^1 junto con los átomos a los que están unidos forman un heterociclo opcionalmente sustituido;

R^{12} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

cada R^{13} es independientemente H, alquilo opcionalmente sustituido, o R^{13} comprende una molécula de carga;

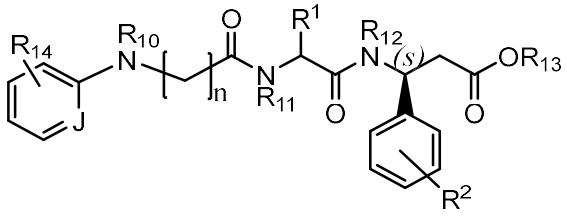
R^{14} es alquilo opcionalmente sustituido; y

donde al menos uno de R^1, R^2, R^{13}, R^{P1} y R^{P2} comprende una molécula de carga.

[0049] En algunas realizaciones, n=3 en la Fórmula I. En algunas realizaciones, n=4 en la Fórmula I.

[0050] En algunas realizaciones, de Fórmula I, R^2 es naftileno. En algunas realizaciones de Fórmula I, R^2 es naftileno sustituido y R^2 también comprende una molécula de carga.

[0051] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente incluye la estructura de la siguiente fórmula:



(Fórmula II),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 0 a 7 (es decir, n es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7);

J es C-H o N;

R^1 es H, C_1-C_6 alquilo, $CH(R^3)(R^4)$, OH, COOH, $CH_2CH_2CH_2NH_2$, $CONHR^5$, OR^6, donde R^3 es H o C_1-C_6 alquilo, R^4 es H, C_1-C_6 alquilo, R^5 es H o C_1-C_6 alquilo y R^6 es H o C_1-C_6 alquilo;

R^2 es cicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido o heteroarileno opcionalmente sustituido,

R^{10} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{11} es H o alquilo opcionalmente sustituido, o R^{11} y R^1 junto con los átomos a los que están unidos forman un heterociclo opcionalmente sustituido;

R^{12} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

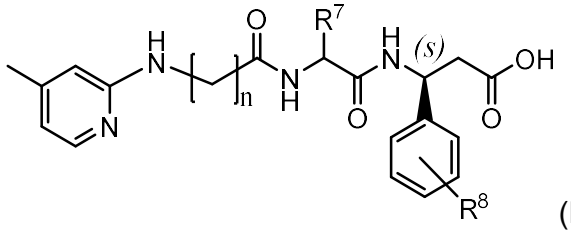
R^{13} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{14} es alquilo opcionalmente sustituido;

en donde al menos uno de R^1 o R^2 incluye una molécula de carga.

[0052] En algunas realizaciones, n=3 en la Fórmula II, En algunas realizaciones, n=4 en la Fórmula II,

[0053] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente incluye la estructura de la siguiente fórmula:



(Fórmula III),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 1 a 7 (es decir, n es 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7);

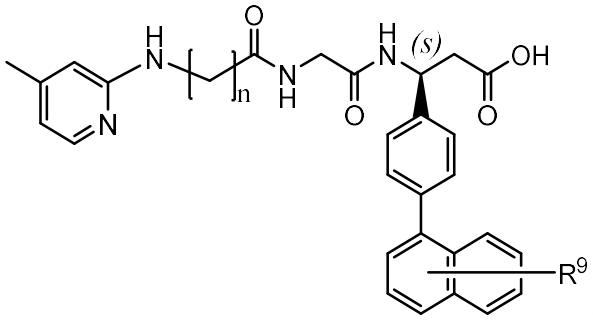
R^7 incluye una o más moléculas de carga; y

R^8 es uno o más fracciones cíclicas divalentes opcionalmente sustituidas que tienen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono, tales como cicloalquilo

(p. ej., ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo), cicloalquenilo (p. ej., ciclopentenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo o cicloheptenilo), arilo (p. ej., fenilo), heteroarilo (p. ej., piridilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirrol, pirazol, imidazol, tiofeno, benzotio, tiofeno, benzotio, tiofeno, benzotio , isoxazol, benzofurano, indol, indazol, bencimidazol, oxadiazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol, tetrazol, quinolinilo, isoquinolinilo o quinoxalinilo), o heterociclilo (p. ej., tetrahidrofurano, tetrahidropirano, piperidina, pirrolidina, dioxano o dioxolano).

[0054] En algunas realizaciones, n=3 en la Fórmula III, En algunas realizaciones, n=4 en la Fórmula III,

[0055] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente incluye la estructura de la siguiente fórmula:



(Fórmula IV),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

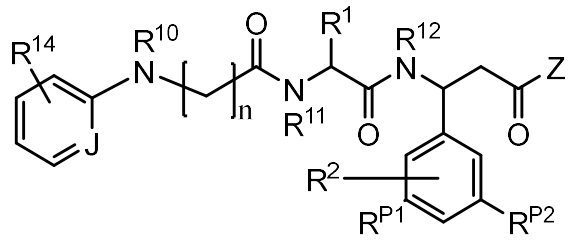
donde,

n es un número entero de 1 a 7 (es decir, n es 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7); y

R^9 incluye una o más moléculas de carga.

[0056] En algunas realizaciones, n=3 en la Fórmula IV, En algunas realizaciones, n=4 en la Fórmula IV,

[0057] En otro aspecto, la invención proporciona un precursor de ligando dirigido a la integrina de la siguiente estructura:



(Fórmula Ib),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 0 a 7;

J es C-H o N;

Z es OR^{13}, $N(R^{13})_2$ o SR^{13};

R^1 es H, opcionalmente sustituido con C_1-C_6 alquilo, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6, o R^1 comprende un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo, donde cada R^5 es independientemente H o C_1-C_6 alquilo, y R^6 es H o C_1-C_6 alquilo;

R^2, R^{P1} y R^{P2} son cada uno de manera independiente H, halo, cicloalquileno sustituido opcionalmente, arileno sustituido opcionalmente, heterocicloalquileno sustituido opcionalmente o heteroarileno sustituido opcionalmente, o R^2, R^{P1} and R^{P2} pueden comprender un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo;

R^{10} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{11} es H o alquilo opcionalmente sustituido, o R^{11} y R^1 junto con los átomos a los que están unidos forman un heterociclo opcionalmente sustituido;

R^{12} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

cada R^{13} es independientemente H, alquilo opcionalmente sustituido, o R^{13} comprende un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo;

R^{14} es alquilo opcionalmente sustituido; y

donde al menos uno de R^1, R^2, R^{13}, R^{P1} y R^{P2} comprende un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo.

[0058] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente puede conjugarse con uno o más (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11,

12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30; o 1 a 30, 1 a 25, 1 a 20, 1 a 15, 1 a 10, 1 a 5, 5 a 30, 5 a 25, 5 a 20, 5 a 15, 5 a 10, 10 a 30, 10 a 25, 10 a 20, 10 a 15, 15 a 30, 15 a 25, 15 a 20, 20 a 30, 20 a 25, o 25 a 30) moléculas de carga (p. ej. cualquiera de las moléculas de carga descritas en la presente o conocidas en la técnica).

[0059] En algunas realizaciones, más de un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 1 a 8, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4, 2 a 3, 3 a 8, 3 a 7, 3 a 6, 3 a 5, 3 a 4, 4 a 8, 4 a 7, 4 a 6 o 4 a 5 ligandos de integrina αvβ6) puede conjugarse con una o más moléculas de carga (p. ej. cualquiera de las moléculas de carga descritas en la presente o conocidas en la técnica).

[0060] En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente se conjugan opcionalmente con una o más moléculas de carga mediante un grupo de enlace, tal como, por ejemplo, un grupo de polietilenglicol (PEG).

[0061] En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente se conjugan opcionalmente con una o más moléculas de carga mediante un andamio que incluye al menos un punto de unión para cada ligando y al menos un punto de unión para cada molécula de carga. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una molécula de carga. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 comprenden, consisten en o consisten esencialmente en más de una molécula de carga.

[0062] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las siguientes: Estructura 1, Estructura 2, Estructura 5, Estructura 5.1, Estructura 5.2, Estructura 6, Estructura 6.1, Estructura 6.2, Estructura 6.3, Estructura 6.4, Estructura 7, Estructura 8, Estructura 9, Estructura 10, Estructura 11, Estructura 12, Estructura 13, Estructura 14, Estructura 15, Estructura 16, Estructura 17, Estructura 18,

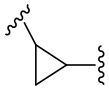
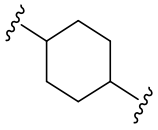
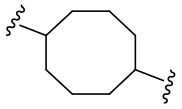
Estructura 19, Estructura 20, Estructura 22, Estructura 23, Estructura 24 , Estructura 25, Estructura 27, Estructura 29, Estructura 30, Estructura 31, Estructura 32, Estructura 33, Estructura 34, Estructura 35, Estructura 36 o Estructura 37, cada una como se describe en la presente.

[0063] Cualquiera de los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente pueden unirse a una molécula de carga, un grupo reactivo y/o un grupo reactivo protegido. Se puede usar un grupo reactivo para facilitar la conjugación del ligando de integrina αvβ6 a una molécula de carga. Los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente pueden aumentar el direccionamiento de una molécula de carga a una integrina αvβ6 o a una célula que expresa una integrina αvβ6. Una molécula de carga puede ser, a mero título enunciativo, un ingrediente o compuesto farmacéuticamente activo, un profármaco u otra sustancia con beneficio terapéutico o diagnóstico conocido. En algunas realizaciones, una molécula de carga puede ser, a mero título enunciativo, una molécula pequeña, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una inmunoglobulina, un anticuerpo monoclonal, una etiqueta o marcador, un lípido, un compuesto basado en oligonucleótidos naturales o modificados (p. ej., un oligonucleótido antisentido o un agente de ARNi), un ácido nucleico natural o modificado, un péptido, un aptámero, un polímero, una poliamina, una proteína, una toxina, una vitamina, un polietilenglicol, un hapteno, una digoxigenina, una biotina, un átomo radioactivo o molécula, o un fluoróforo. En algunas realizaciones, una molécula de carga incluye un ingrediente farmacéuticamente activo o un profármaco. En algunas realizaciones, una molécula de carga incluye un compuesto basado en oligonucleótidos como ingrediente farmacéuticamente activo. En algunas realizaciones, una molécula de carga incluye un agente de ARNi como ingrediente farmacéuticamente activo.

[0064] Como se usa en la presente, el término “alquilo” se refiere a un grupo de hidrocarburos alifáticos saturados, de cadena lineal o ramificada, que tiene de 1 a 10 átomos de carbono, a menos que se especifique lo contrario. Por

ejemplo, “alquilo C_1-C_6” incluye grupos alquilo que tienen 1, 2, 3, 4, 5 o 6 carbonos en una disposición lineal o ramificada. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, *iso*-propilo, *tert*-butilo, *n*-hexilo. Como se usa en la presente, el término “aminoalquilo” se refiere a un grupo alquilo como se definió anteriormente, sustituido en cualquier posición con uno o más grupos amino según lo permita la valencia normal. Los grupos amino pueden estar no sustituidos, monosustituidos o disustituidos. Ejemplos no limitantes de grupos aminoalquilo incluyen aminometilo, dimetilaminometilo y 2-aminoprop-1-ilo.

[0065] Como se usa en la presente, el término “cicloalquilo” se refiere a un grupo de anillos de hidrocarburos no aromáticos y no saturados que tiene de 3 a 14 átomos de carbono, a menos que se especifique lo contrario. Los ejemplos no limitantes de grupos cicloalquilo incluyen, a mero título enunciativo, ciclopropilo, metil-ciclopropilo, 2,2-dimetil-ciclobutilo, 2-etil-ciclopentilo y ciclohexilo. Los cicloalquilos pueden incluir múltiples anillos espiro o fusionados. Los grupos cicloalquilo están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0066] Como se usa en la presente, el término “cicloalquileno” se refiere a un radical divalente de un grupo cicloalquilo como se describe en la presente. El cicloalquileno es un subconjunto de cicloalquilo, que se refiere a los mismos residuos que el cicloalquilo, pero que tiene dos puntos de sustitución. Los ejemplos de cicloalquileno incluyen ciclopropileno,  , 1,4-ciclohexileno,  y 1,5-ciclooxileno  . Los grupos cicloalquileno están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal. Los grupos cicloalquileno pueden ser mono-, di- o tricíclicos.

[0067] Como se usa en la presente, el término “alquenilo” se refiere a un radical de hidrocarburo no aromático, lineal o ramificado, que contiene al menos

un doble enlace carbono-carbono y que tiene de 2 a 10 átomos de carbono, a menos que se especifique lo contrario. Pueden estar presentes hasta cinco dobles enlaces carbono-carbono en dichos grupos. Por ejemplo, "C_2-C_6" alquenilo se define como un radical alquenilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen, a mero título enunciativo, etenilo, propenilo, butenilo y ciclohexenilo. La porción lineal, ramificada o cíclica del grupo alquenilo puede contener dobles enlaces y está opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituido en cualquier posición según lo permita la valencia normal. El término "cicloalquenilo" significa un grupo de hidrocarburo monocíclico que tiene el número especificado de átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono.

[0068] Como se usa en la presente, el término "alquinilo" se refiere a un radical de hidrocarburo, lineal o ramificado, que contiene de 2 a 10 átomos de carbono, a menos que se especifique lo contrario, y que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Pueden estar presentes hasta 5 triples enlaces carbono-carbono. Por ejemplo, "C_2-C_6 alquinilo" significa un radical alquinilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquinilo incluyen, a mero título enunciativo, etinilo, 2-propinilo, 2-butinilo. La porción lineal o ramificada del grupo alquinilo puede estar opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituido en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0069] Como se usa en la presente, "alcoxilo" o "alcoxi" se refiere a un radical -O-alquilo que tiene el número indicado de átomos de carbono. Por ejemplo, $C_{1–6}$ alcoxi pretende incluir los grupos alcoxi C_1, C_2, C_3, C_4, C_5 y C_6. Por ejemplo, $C_{1–8}$ alcoxi pretende incluir los grupos alcoxi C_1, C_2, C_3, C_4, C_5, C_6, C_7 y C_8. Los ejemplos de alcoxi incluyen, a mero título enunciativo, metoxi, etoxi, n–propoxi, i–propoxi, n–butoxi, s–butoxi, t–butoxi, n–pentoxi, s–pentoxi, n–heptoxi y n–octoxi.

[0070] Como se usa en la presente, "ceto" se refiere a cualquier grupo alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterociclilo, heteroarilo o

arilo, como se define en la presente, unido a través de un puente carbonilo. Los ejemplos de grupos ceto incluyen, a mero título enunciativo, alcanoilo (p. ej., acetilo, propionilo, butanoilo, pentanoilo o hexanoilo), alquenoilo (p. ej., acriloilo) alquinoilo (p. ej., etinoilo, propinoilo, butinoilo, pentinoilo o hexinoilo), ariloilo (p. ej., benzoilo), heteroariloilo (p. ej., pirroloilo, imidazoloilo, quinolinoilo o piridinoilo).

[0071] Como se usa en la presente, “alcoxicarbonilo” se refiere a cualquier grupo alcoxi, como se definió anteriormente, unido a través de un puente carbonilo (es decir, -C(O)O-alquilo). Los ejemplos de grupos alcoxicarbonilo incluyen, a mero título enunciativo, metoxicarbonilo, etoxicarbonilo, iso-propoxicarbonilo, n-propoxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo o n-pentoxicarbonilo.

[0072] Como se usa en la presente, “ariloxicarbonilo” se refiere a cualquier grupo arilo, como se define en la presente, unido a través de un puente oxicarbonilo (es decir, -C(O)O-arilo). Los ejemplos de grupos ariloxicarbonilo incluyen, a mero título enunciativo, fenoxicarbonilo y naftiloxicarbonilo.

[0073] Como se usa en la presente, “heteroariloxicarbonilo” se refiere a cualquier grupo heteroarilo, como se define en la presente, unido a través de un puente oxicarbonilo (es decir, -C(O)O-heteroarilo). Los ejemplos de grupos heteroariloxicarbonilo incluyen, a mero título enunciativo, 2-piridiloxicarbonilo, 2-oxazoliloxicarbonilo, 4-tiazoliloxicarbonilo o pirimidiniloxicarbonilo.

[0074] Como se usan en la presente, “arilo” o “aromático” significan cualquier anillo estable de carbono monocíclico o policíclico de hasta 6 átomos en cada anillo, donde al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, a mero título enunciativo, fenilo, naftalenilo, antracenilo, tetrahidronaftilo, indanilo y bifenilo. En los casos en los que el sustituyente arilo es bicíclico y un anillo no es aromático, se entiende que la unión se realiza a través del anillo aromático. Los grupos arilo están opcionalmente mono-, di-, tri-

, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0075] Como se usa en la presente, el término “arileno” se refiere a un radical divalente de un grupo arilo como se describe en la presente. El arileno es un subconjunto de arilo, que se refiere a los mismos residuos que el arilo, pero que tiene dos puntos de sustitución. Los ejemplos de arileno incluyen fenileno, que se refiere a un grupo fenilo divalente. Los grupos arileno están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0076] Como se usa en la presente, el término “halo” se refiere a un radical de halógeno. Por ejemplo, “halo” puede referirse a un radical de flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I).

[0077] Como se usa en la presente, el término “heteroarilo” representa un anillo monocíclico o policíclico estable de hasta 7 átomos en cada anillo, donde al menos un anillo es aromático y contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, a mero título enunciativo, acridinilo, carbazolilo, cinnolinilo, quinoxalinilo, pirrazolilo, indolilo, benzotriazolilo, furanilo, tienilo, benzotienilo, benzofuranilo, bencimidazolonilo, benzoxazolonilo, quinolinilo, isoquinolinilo, dihidroisoindolonilo, imidazopiridinilo, isoindolonyl, indazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, isoxazolilo, indolilo, pirazinilo, piridazinilo, piridinilo, pirimidinilo, pirrolilo y tetrahidroquinolina. También se entiende que “heteroarilo” incluye el derivado de N-óxido de cualquier heteroarilo que contiene nitrógeno. En los casos en los que el sustituyente heteroarilo es bicíclico y un anillo no es aromático o no contiene heteroátomos, se entiende que la unión se realiza a través del anillo aromático o a través del anillo que contiene heteroátomos. Los grupos heteroarilo están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0078] Como se usa en la presente, el término “heteroarileno” se refiere a un radical divalente de un grupo heteroarilo como se describe en la presente. El heteroarileno es un subconjunto de heteroarilo, que se refiere a los mismos residuos que el heteroarilo, pero que tiene dos puntos de sustitución. Los ejemplos de heteroarilo incluyen piridinileno, pirimidinileno y pirrolileno. Los grupos heteroarileno están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0079] Como se usa en la presente, el término “heterociclo”, “heterocíclico” o “heterociclilo” significa un heterociclo aromático o no aromático de 3 a 14 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S, incluidos grupos policíclicos. Como se usa en la presente, el término “heterocíclico” también se considera sinónimo de los términos “heterociclo” y “heterociclilo” y se entiende que también tiene las mismas definiciones establecidas en la presente. “Heterociclilo” incluye los heteroarilos mencionados anteriormente, así como análogos dihidro y tetrahidro de este. Ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, a mero título enunciativo, azetidinilo, benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzofurazanilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, carbazolilo, carbolinilo, cinolinilo, furanilo, imidazolilo, indolinilo, indolilo, indolazinilo, indazolilo, isobenzofuranilo, isoindolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, naftpiridinilo, oxadiazolilo, oxooxazolidinilo, oxazolilo, oxazolina, oxopiperazinilo, oxopirrolidinilo, oxomorfolinilo, isoxazolina, oxetanilo, piranilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridopiridinilo, piridazinilo, piridilo, piridinonilo, pirimidilo, pirimidinonilo, pirrolilo, quinazolilo, quinolilo, quinoxalinilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrazolilo, tetrazolopiridilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo, 1,4-dioxanilo, hexahidroazepinilo, piperazinilo, piperidinilo, piridin-2-onilo, pirrolidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, dihidrobenzoimidazolilo, dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzotiofenilo, dihidrobenzoxazolilo, dihidrofuranilo, dihidroimidazolilo, dihidroindolilo,

dihidroisooxazolilo, dihidroisotiazolilo, dihidrooxadiazolilo, dihidrooxazolilo, dihidropirazinilo, dihidropirazolilo, dihidropiridinilo, dihidropirimidinilo, dihidropirrolilo, dihidroquinolinilo, dihidrotetrazolilo, dihidrotiadiazolilo, dihidrotiazolilo, dihidrotienilo, dihidrotriazolilo, dihidroazetidinilo, dioxidotiomorfolinilo, metilendioxibenzoilo, tetrahidrofuranilo, y tetrahidrotienilo y N-óxidos de estos. La unión de un sustituyente heterociclilo puede ocurrir mediante un átomo de carbono o mediante un heteroátomo. Los grupos heterociclilo están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0080] Como se usa en la presente, el término “heterocicloalquilo” significa un heterociclo no aromático de 3 a 14 miembros que contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S, incluidos grupos policíclicos. Ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, a mero título enunciativo, azetidinilo, oxopiperazinilo, oxopirrolidinilo, oxomorfolinilo, oxetanilo, piranilo, piridinonilo, pirimidinonilo, tetrahidropiranilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiopiranilo, tetrahidroisoquinolinilo, 1,4-dioxanilo, hexahidroazepinilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, dihidrofuranilo, dihidroimidazolilo, dihidroisooxazolilo, dihidroisotiazolilo, dihidrooxadiazolilo, dihidrooxazolilo, dihidropirazinilo, dihidropirazolilo, dihidropiridinilo, dihidropirimidinilo, dihidropirrolilo, dihidrotetrazolilo, dihidrotiadiazolilo, dihidrotiazolilo, dihidrotienilo, dihidrotriazolilo, dioxidotiomorfolinilo, y tetrahidrotienilo, y N-óxidos de estos. La unión de un sustituyente heterocicloalquilo puede ocurrir mediante un átomo de carbono o mediante un heteroátomo. Los grupos heterociclilo están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0081] Como se usa en la presente, el término “heterocicloalquileno” se refiere a un radical divalente de un grupo heterocicloalquilo como se describe en la presente. El heterocicloalquileno es un subconjunto de heterocicloalquilo, que

se refiere a los mismos residuos que el heterocicloalquilo, pero que tiene dos puntos de sustitución. Los ejemplos de heterocicloalquileno incluyen piperidinileno, azetidinileno y tetrahidrofuranileno. Los grupos heterocicloalquileno están opcionalmente mono-, di-, tri-, tetra- o pentasustituidos en cualquier posición según lo permita la valencia normal.

[0082] Como se usan en la presente, los términos “tratar”, “tratamiento” y similares, significan los métodos o pasos tomados para proporcionar alivio o reducción del número, la gravedad y/o la frecuencia de uno o más síntomas de una enfermedad en un sujeto. Como se usan en la presente, los términos “tratar” y “tratamiento” pueden incluir la prevención, el manejo y el tratamiento profiláctico y/o la inhibición del número, la gravedad y/o la frecuencia de uno o más síntomas de una enfermedad en un sujeto.

[0083] Como se usa en la presente, la frase “introducción en una célula”, cuando se refiere a un agente de ARNi, significa administrar funcionalmente el agente de ARNi en una célula. La frase “administración funcional” significa administrar el agente de ARNi a la célula de una manera que permita que el agente de ARNi tenga la actividad biológica esperada, p. ej., la inhibición de la expresión génica específica de la secuencia.

[0084] A menos que se indique lo contrario, el uso del símbolo  como se usa en la presente significa que cualquier grupo o grupos pueden estar vinculados a este de acuerdo con el alcance de las invenciones descritas en la presente.

[0085] Como se usa en la presente, el término “isómeros” se refiere a compuestos que tienen fórmulas moleculares idénticas, pero que difieren en la naturaleza o la secuencia de unión de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan “estereoisómeros”. Los estereoisómeros que no son imágenes especulares entre sí se denominan “diastereoisómeros”, y los

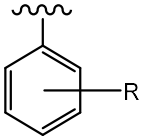
estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles se denominan “enantiómeros” o, a veces, isómeros ópticos. Un átomo de carbono unido a cuatro sustituyentes no idénticos se denomina “centro quiral”. Cuando los compuestos descritos en la presente contienen dobles enlaces olefínicos u otros centros de asimetría geométrica para los cuales la estructura isomérica no está específicamente definida, se pretende que los compuestos puedan incluir los isómeros geométricos E y Z individualmente o en una mezcla. Los compuestos de Fórmula I o sus sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, pretenden incluir todos los isómeros posibles, así como sus formas racémicas y ópticamente puras. Del mismo modo, a menos que se indique expresamente lo contrario, todas las formas tautoméricas también pretenden incluirse.

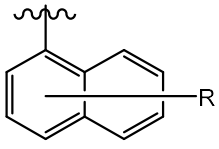
[0086] Como se usa en la presente, un grupo de enlace es uno o más átomos que conectan una molécula o una porción de una molécula con otra a una segunda molécula o segunda porción de una molécula. En la técnica, los términos grupo de unión y espaciadores a veces se usan indistintamente. De manera similar, como se usa en la técnica, el término andamio a veces se usa indistintamente con un grupo de enlace. En algunas realizaciones, un grupo de enlace puede incluir un grupo de enlace escindible por péptido. En algunas realizaciones, un grupo de enlace puede incluir o consistir en el péptido fenilalanina-citrulina-fenilalanina-prolina. En algunas realizaciones, un grupo de enlace puede incluir o consistir en un grupo de PEG.

[0087] Como se usa en la presente, el término “vinculado”, cuando se refiere a la conexión entre dos moléculas, significa que dos moléculas están unidas por un enlace covalente o que dos moléculas están asociadas a través de enlaces no covalentes (p. ej., enlaces de hidrógeno o enlaces iónicos). En algunos ejemplos, donde el término “vinculado” se refiere a la asociación entre dos moléculas a través de enlaces no covalentes, la asociación entre las dos moléculas diferentes tiene una K_D de menos de 1×10^{-4} M (p. ej. de menos de 1×10^{-5} M, menos de 1×10^{-6} M, o menos de 1×10^{-7} M) en tampón

fisiológicamente aceptable (p. ej., solución salina tamponada con fosfato). A menos que se indique, el término vinculado como se usa en la presente puede referirse a la conexión entre un primer compuesto y un segundo compuesto con o sin átomos o grupos de átomos intervinientes.

[0088] El experto en la técnica entenderá y apreciará fácilmente que los compuestos y las composiciones descritos en la presente pueden tener ciertos átomos (p. ej., átomos de N, O o S) en un estado protonado o desprotonado, dependiendo del entorno en el que se coloque el compuesto o la composición. Por consiguiente, como se usan en la presente, las estructuras descritas en la presente prevén que ciertos grupos funcionales, tales como, por ejemplo, OH, SH o NH, pueden ser protonados o desprotonados. La divulgación en la presente pretende abarcar los compuestos y las composiciones descritos independientemente de su estado de protonación en función el pH del entorno, como entendería fácilmente un experto en la técnica.

[0089] Las estructuras se pueden representar como que tienen un enlace "flotando" sobre una estructura de anillo para indicar la unión a cualquier carbono o heteroátomo en el anillo según lo permita la valencia. Por ejemplo, la estructura 

indica que R puede reemplazar cualquier átomo de hidrógeno en cualquiera de las cinco posiciones disponibles en el anillo. Los enlaces "flotantes" también pueden usarse en estructuras bicíclicas para indicar un enlace a cualquier posición en cualquier anillo del biciclo según lo permita la valencia. En el caso de los biciclos, el enlace se mostrará "flotando" sobre ambos anillos, por ejemplo, 

indica que R puede reemplazar a cualquier átomo de hidrógeno en cualquiera de las siete posiciones disponibles en el anillo.

[0090] Como se usa en una reivindicación de la presente, la frase "que consiste en" excluye cualquier elemento, paso o ingrediente no especificado en

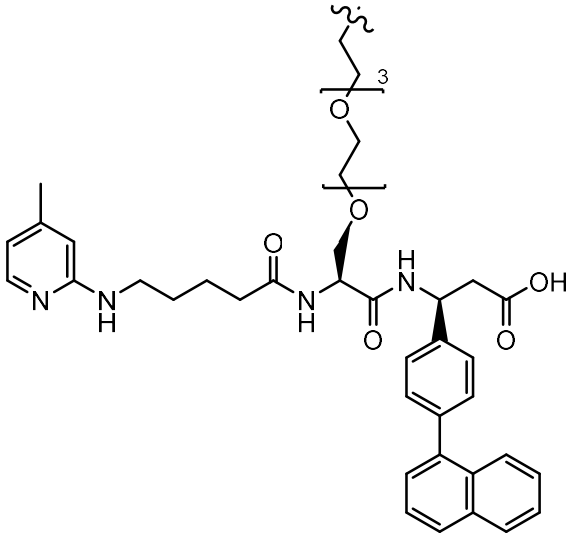
la reivindicación. Cuando se usa en una reivindicación de la presente, la frase "que consiste esencialmente en" limita el alcance de una reivindicación a los materiales o pasos especificados y aquellos que no afectan materialmente las características básicas y novedosas de la invención reivindicada.

[0091] Aquí se describe el uso de los ligandos de integrina αvβ6 descritos para dirigir y administrar una molécula de carga a una célula que expresa la integrina αvβ6. La molécula de carga puede administrarse a una célula *in vitro, in situ, ex vivo* o *in vivo*.

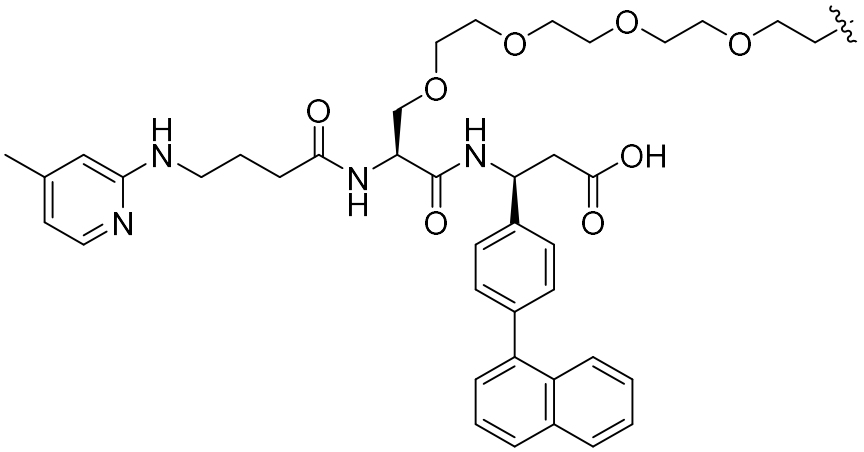
[0092] En algunas realizaciones de Fórmula Ib, el grupo de enlace es un grupo PEG que contiene 2-20 unidades de etilenglicol.

[0093] En algunas realizaciones de Fórmula Ib, el grupo reactivo es una azida.

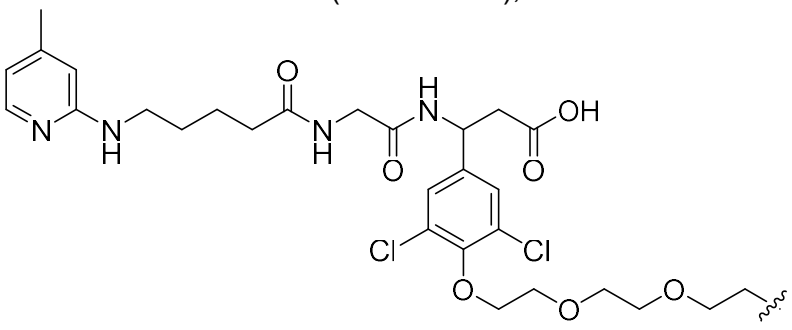
[0094] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αv6 tiene estructuras que incluyen, consisten en o consisten esencialmente en cualquiera de las estructuras representadas por lo siguiente:



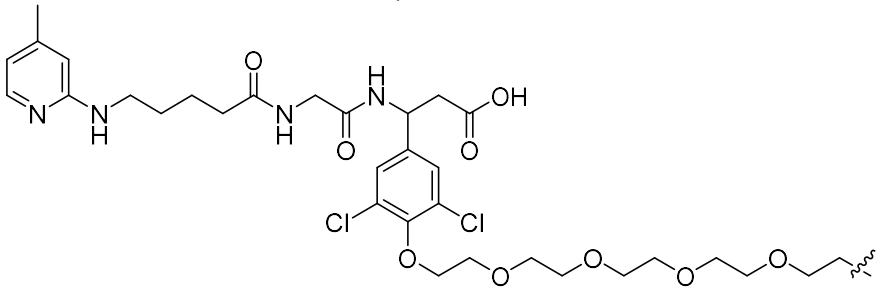
(Estructura 1);



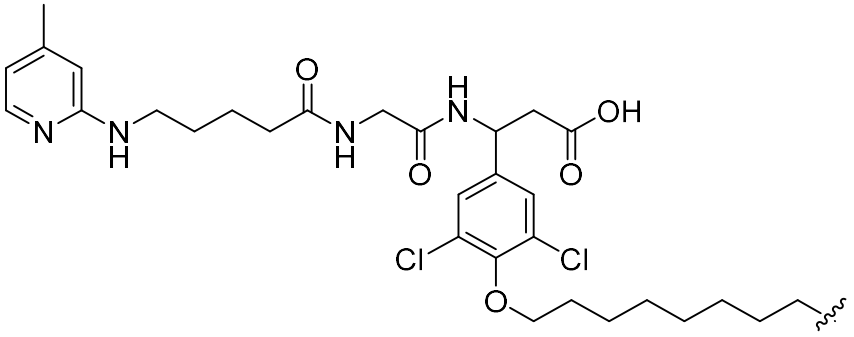
(Estructura 2);



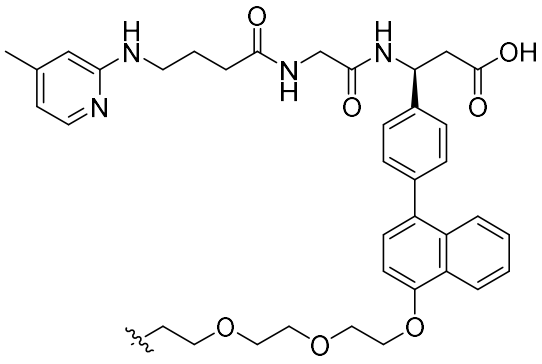
(Estructura 5);



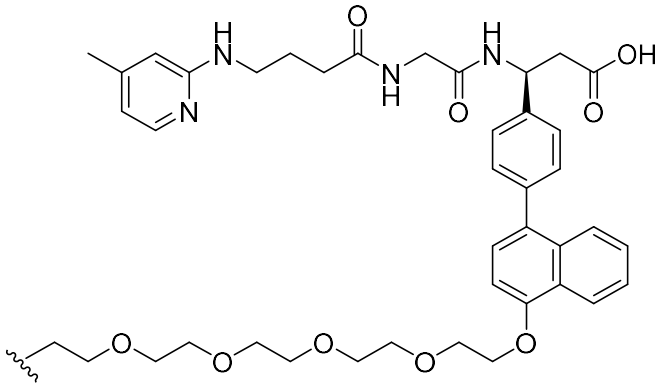
(Estructura 5.1);



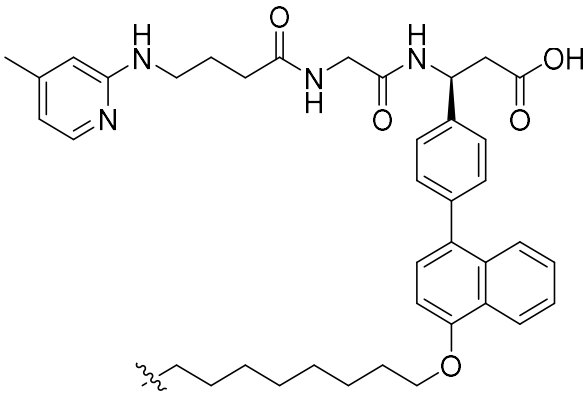
(Estructura 5,2);



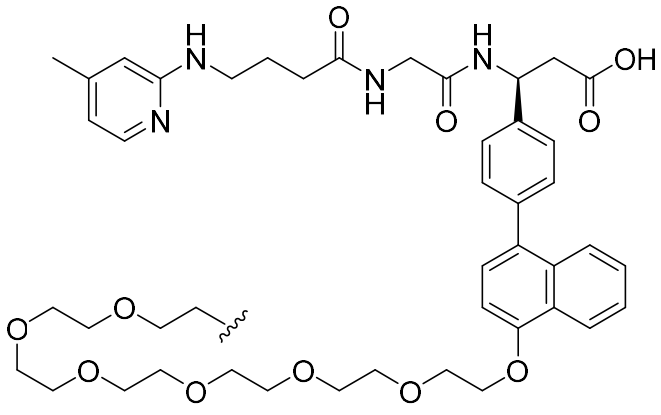
(Estructura 6);



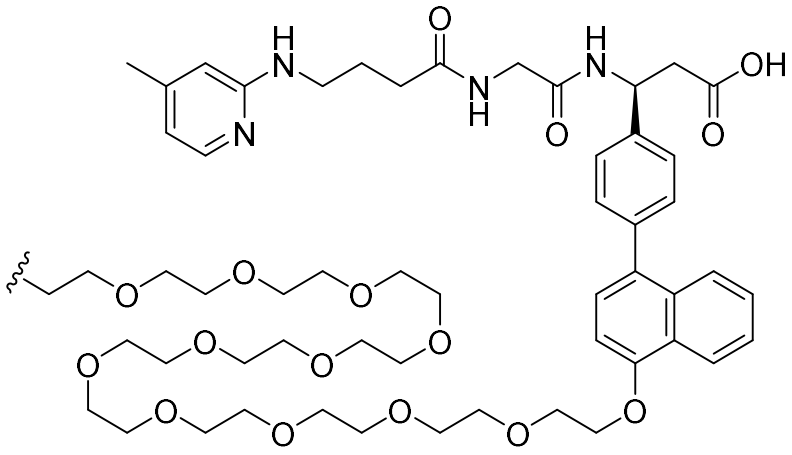
(Estructura 6,1);



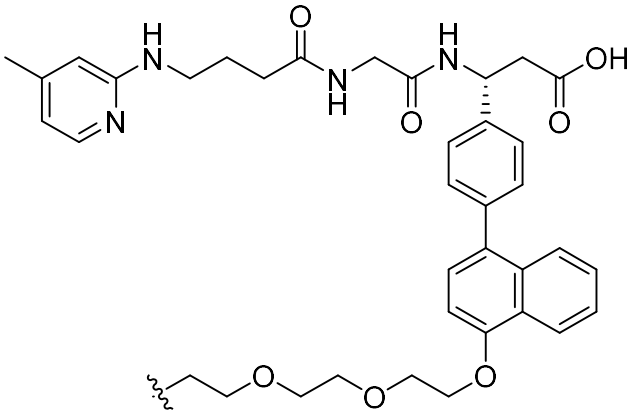
(Estructura 6,2);



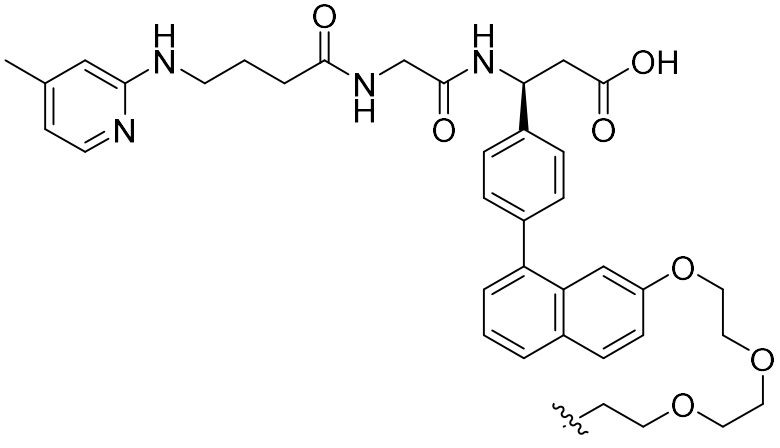
(Estructura 6,3);



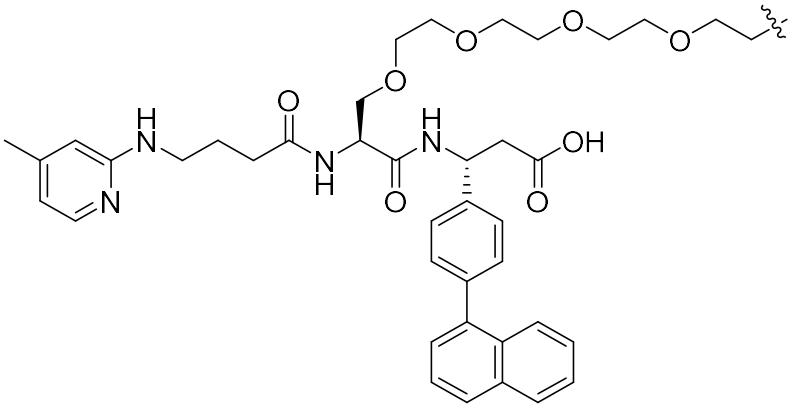
(Estructura 6,4);



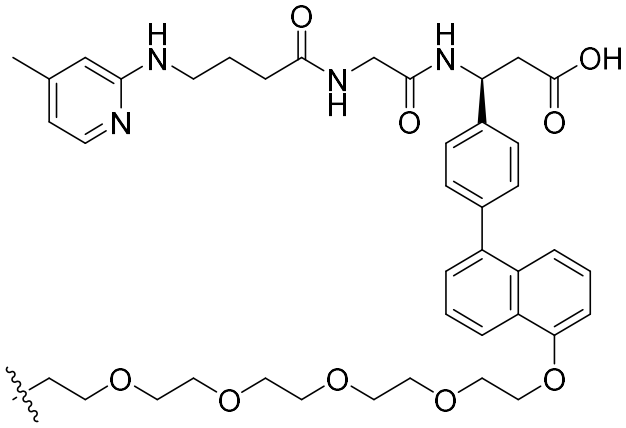
(Estructura 7);



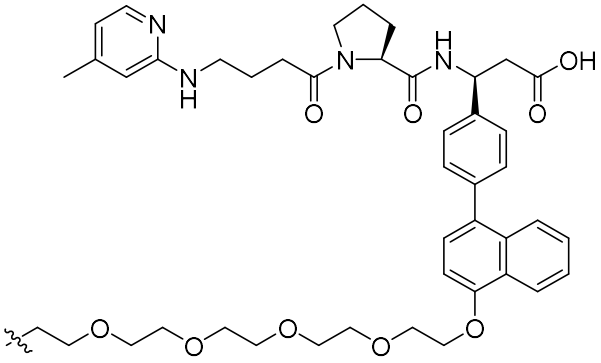
(Estructura 8);



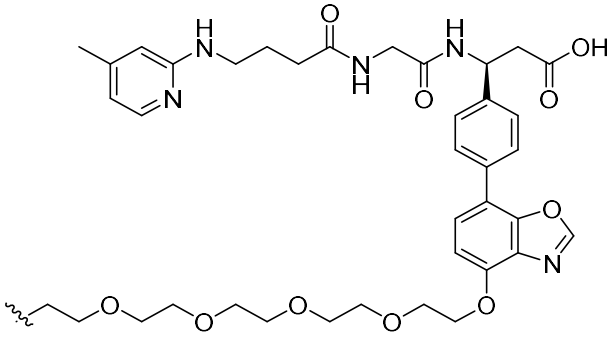
(Estructura 9);



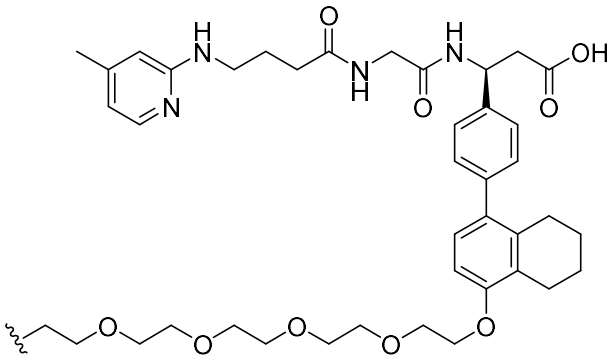
(Estructura 10);



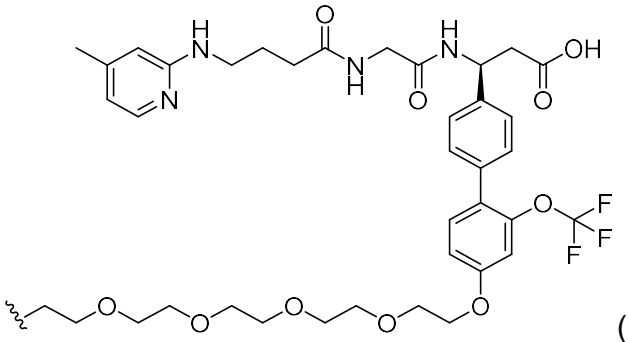
(Estructura 11);



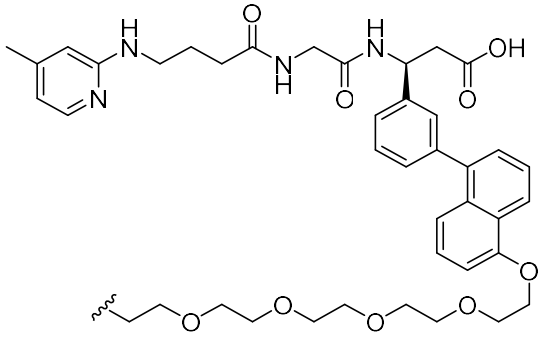
(Estructura 12);



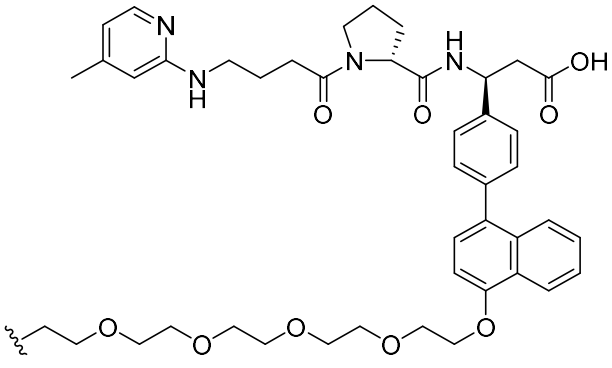
(Estructura 13);



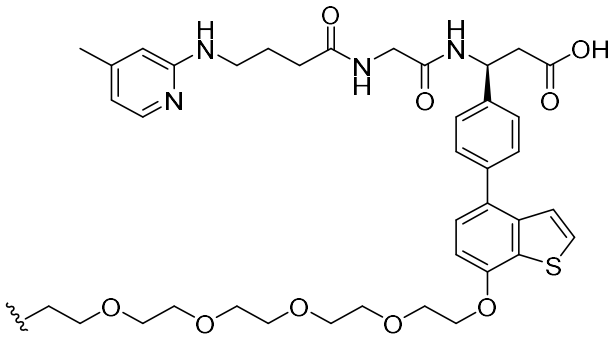
(Estructura 14);



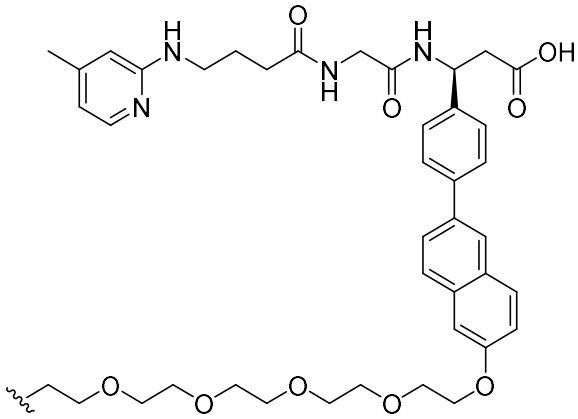
(Estructura 15);



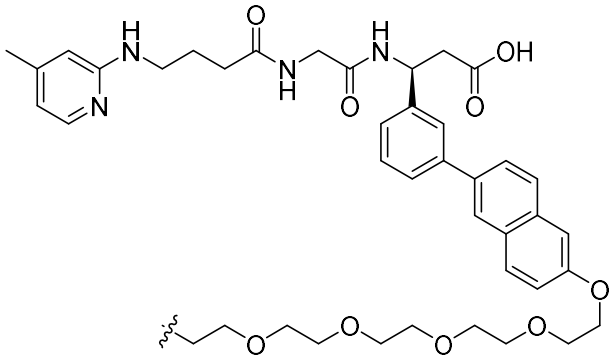
(Estructura 16);



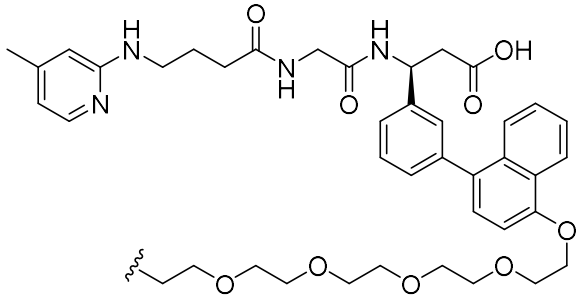
(Estructura 17);



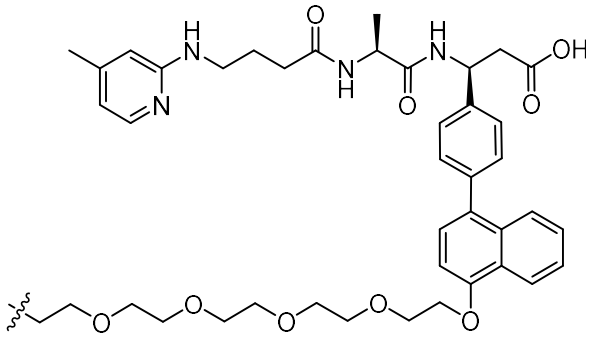
(Estructura 18);



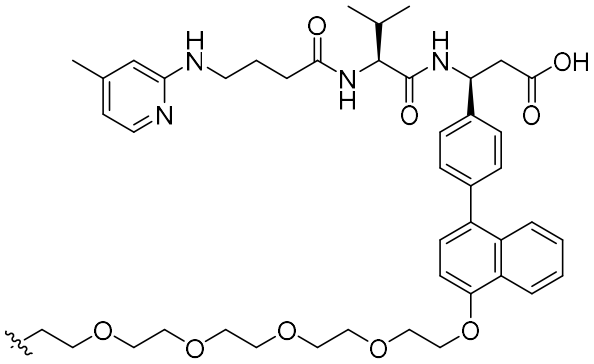
(Estructura 19);



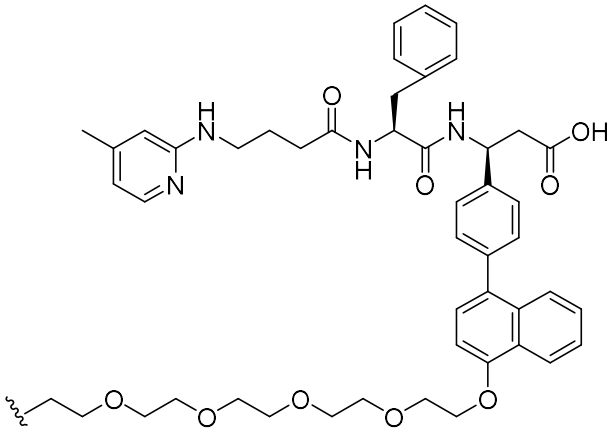
(Estructura 20);



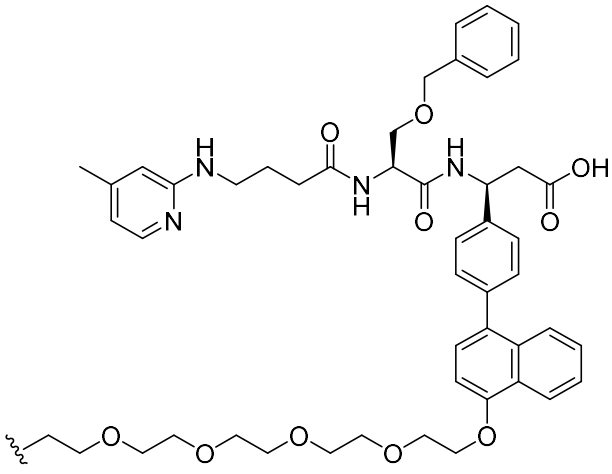
(Estructura 22);



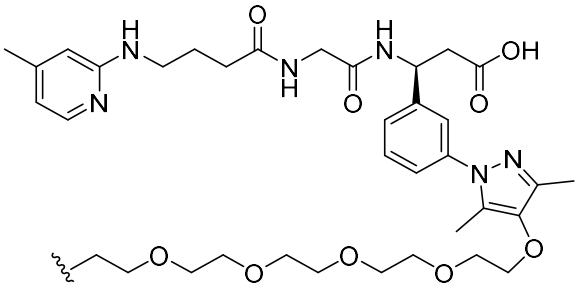
(Estructura 23);



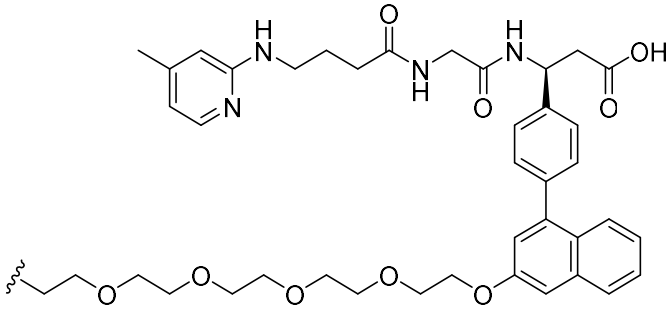
(Estructura 24);



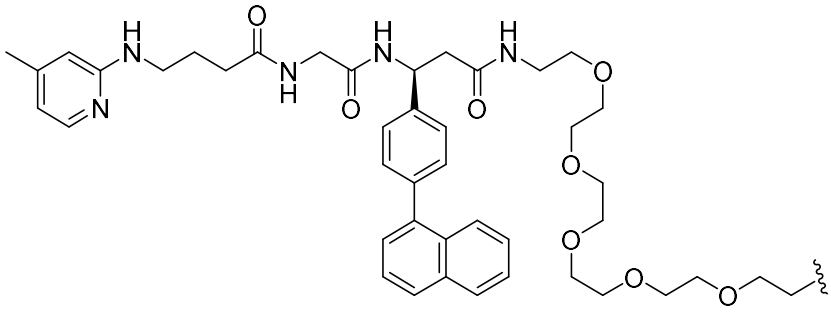
(Estructura 25);



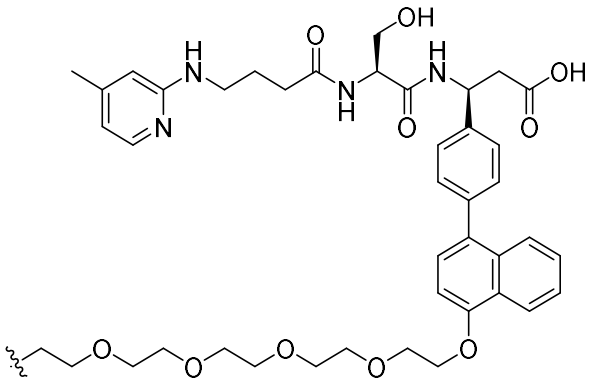
(Estructura 27);



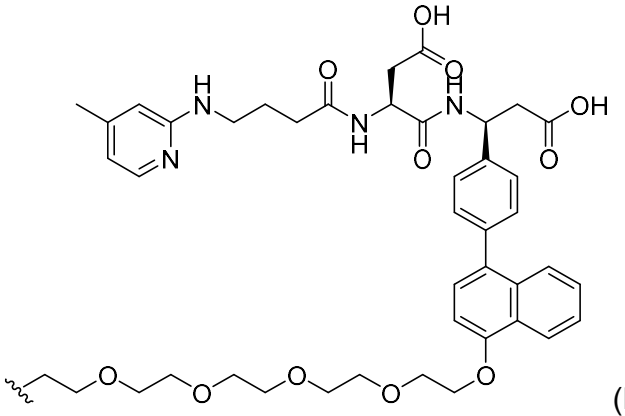
(Estructura 29);



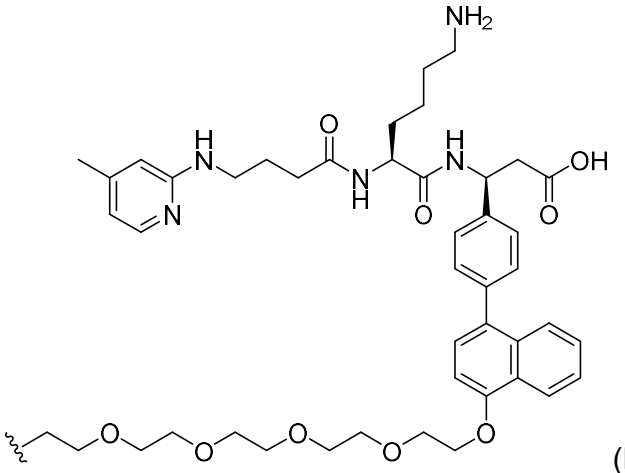
(Estructura 30);



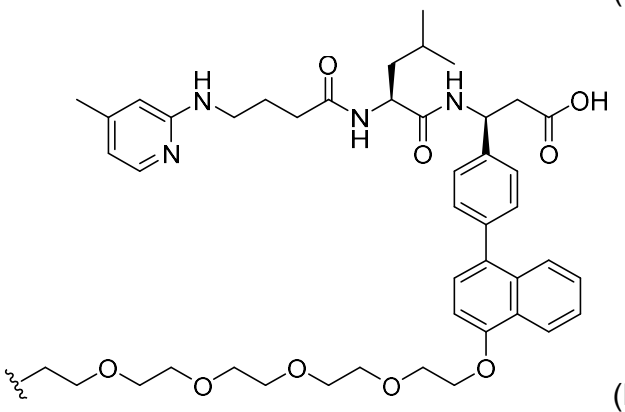
(Estructura 31);



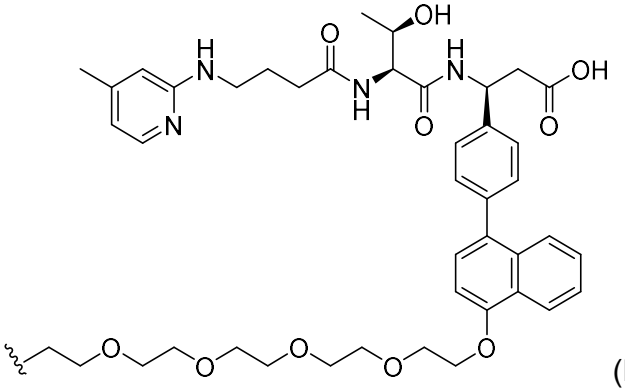
(Estructura 32);



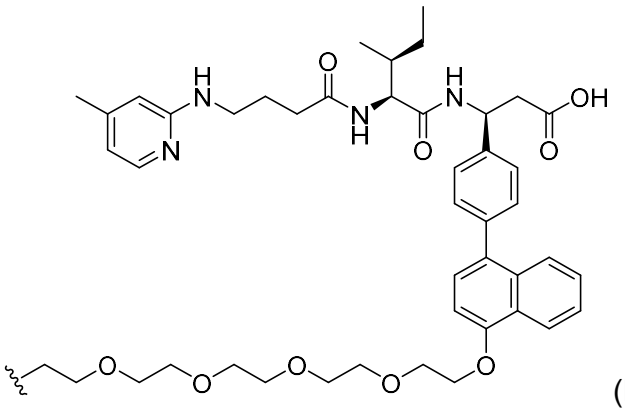
(Estructura 33);



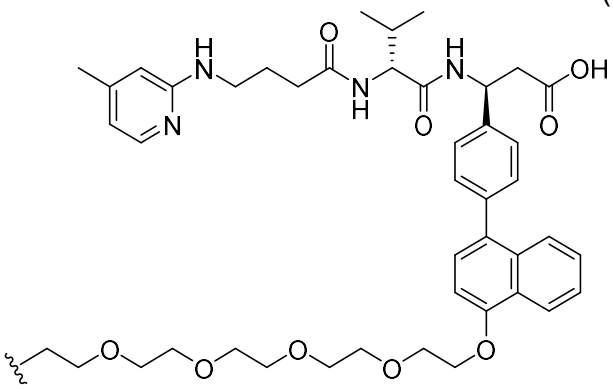
(Estructura 34);



(Estructura 35);



(Estructura 36); y



(Estructura 37),

O sales farmacéuticamente aceptables de estas, donde ~ indica el punto de unión a una fracción que comprende una molécula de carga.

[0095] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente puede conjugarse con uno o más (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, o 30; o 1 a 30, 1 a 25, 1 a 20, 1 a 15, 1 a 10, 1 a 5, 5 a 30, 5 a 25, 5 a 20, 5 a 15, 5 a 10, 10 a 30, 10 a 25, 10 a 20, 10 a 15, 15 a 30, 15 a 25, 15 a 20, 20 a 30, 20 a 25, o 25 a 30) moléculas de carga (p. ej. cualquiera de las moléculas de carga descritas en la presente o conocidas en la técnica).

[0096] En algunas realizaciones, más de un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, o 1 a 8, 1 a 7, 1 a 6, 1 a 5, 1 a 4, 1 a 3, 1 a 2, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4, 2 a 3, 3 a 8, 3 a 7, 3 a 6, 3 a 5, 3 a 4, 4 a 8, 4 a 7, 4 a 6 o 4 a 5 ligandos de integrina αvβ6) puede conjugarse con una o más moléculas de carga (p. ej. cualquiera de las moléculas de carga descritas en la presente o conocidas en la técnica).

[0097] En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente se conjugan opcionalmente con una o más moléculas de carga mediante un grupo de enlace, tal como, por ejemplo, un grupo de polietilenglicol (PEG).

[0098] En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente se conjugan opcionalmente con una o más moléculas de carga mediante un andamio que incluye al menos un punto de unión para cada ligando y al menos un punto de unión para cada molécula de carga. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 comprenden, consisten en o consisten esencialmente en una molécula de carga. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 comprenden, consisten en o consisten esencialmente en más de una molécula de carga.

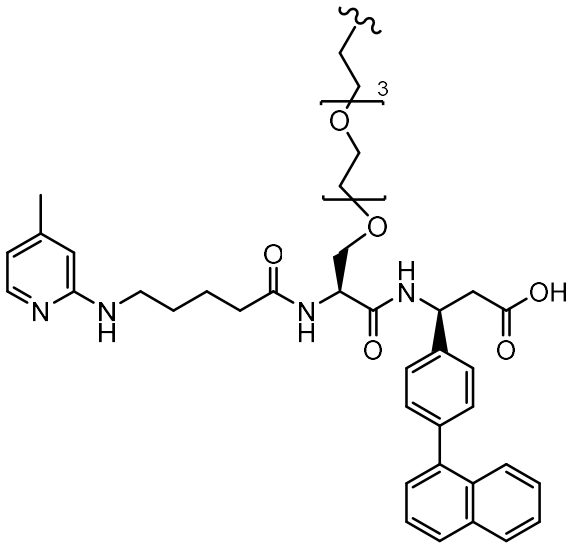
[0099] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 comprende, consiste en o consiste esencialmente en cualquiera de las siguientes: Estructura 1, Estructura 2, Estructura 5, Estructura 5.1, Estructura 5.2, Estructura 6, Estructura 6.1, Estructura 6.2, Estructura 6.3, Estructura 6.4, Estructura 7, Estructura 8, Estructura 9, Estructura 10, Estructura 11, Estructura 12, Estructura 13, Estructura 14, Estructura 15, Estructura 16, Estructura 17, Estructura 18, Estructura 19, Estructura 20, Estructura 22, Estructura 23, Estructura 24 , Estructura 25, Estructura 27, Estructura 29, Estructura 30, Estructura 31, Estructura 32, Estructura 33, Estructura 34, Estructura 35, Estructura 36 o Estructura 37, cada una como se describe en la presente.

[0100] Cualquiera de los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente pueden unirse a una molécula de carga, un grupo reactivo y/o un grupo reactivo protegido. Se puede usar un grupo reactivo para facilitar la conjugación del ligando de integrina αvβ6 a una molécula de carga. Los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente pueden aumentar el direccionamiento de una molécula de carga a una integrina αvβ6 o a una célula que expresa una integrina αvβ6. Una molécula de carga puede ser, a mero título enunciativo, un ingrediente

o compuesto farmacéuticamente activo, un profármaco u otra sustancia con beneficio terapéutico conocido. En algunas realizaciones, una molécula de carga puede ser, a mero título enunciativo, una molécula pequeña, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una inmunoglobulina, un anticuerpo monoclonal, una etiqueta o marcador, un lípido, un compuesto basado en oligonucleótidos naturales o modificados (p. ej., un oligonucleótido antisentido o un agente de ARNi), un ácido nucleico natural o modificado, un péptido, un aptámero, un polímero, una poliamina, una proteína, una toxina, una vitamina, un polietilenglicol, un hapteno, una digoxigenina, una biotina, un átomo radioactivo o molécula, o un fluoróforo. En algunas realizaciones, una molécula de carga incluye un ingrediente farmacéuticamente activo o un profármaco. En algunas realizaciones, una molécula de carga incluye un compuesto basado en oligonucleótidos como ingrediente farmacéuticamente activo. En algunas realizaciones, una molécula de carga incluye un agente de ARNi como ingrediente farmacéuticamente activo.

[0101] En un aspecto, la invención proporciona una estructura que comprende un ligando de integrina αvβ6 como se describe en la presente, un grupo de enlace y un andamio, donde el andamio está unido a una molécula de carga. En algunas realizaciones, la estructura puede comprender el ligando en forma monodentada. En algunas realizaciones, la estructura puede comprender el ligando en forma bidentada. En algunas realizaciones, la estructura puede comprender el ligando en forma tridentada. En algunas realizaciones, la estructura puede comprender el ligando en forma tetradentada.

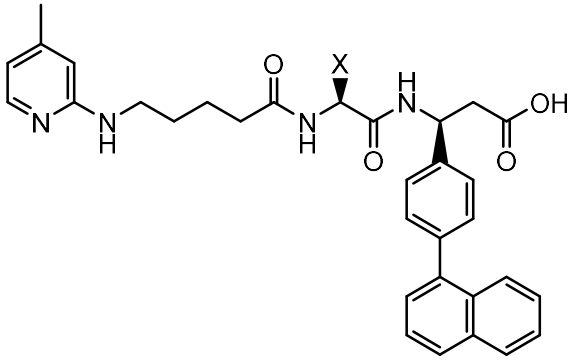
[0102] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 1).

[0103] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 1 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

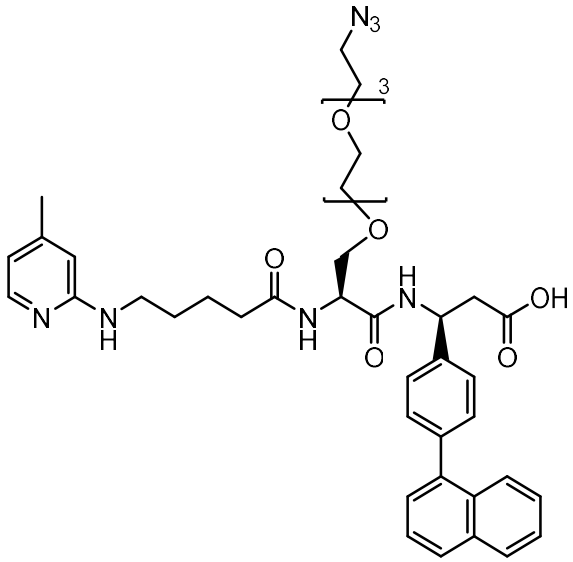
[0104] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 1a),

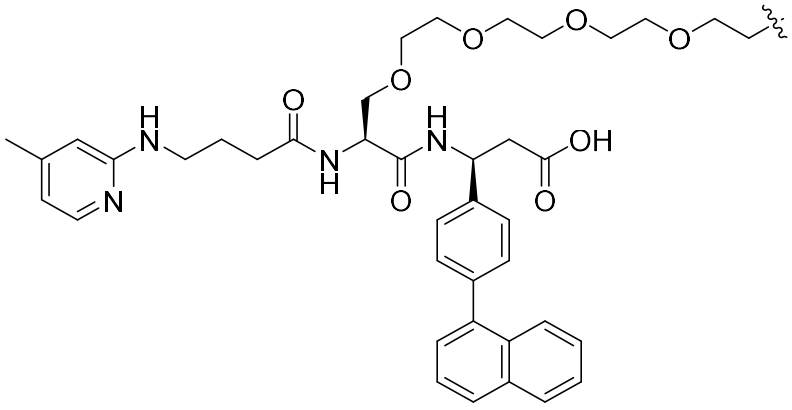
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0105] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 1b)

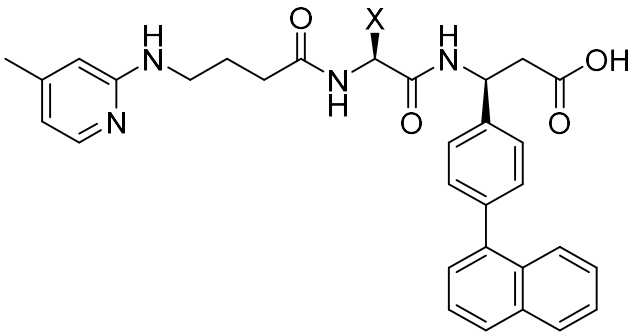
[0106] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 2)

[0107] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 2 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

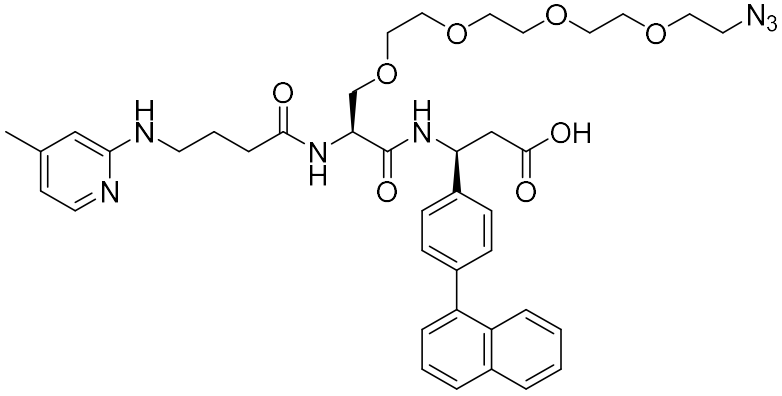
[0108] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 2a),

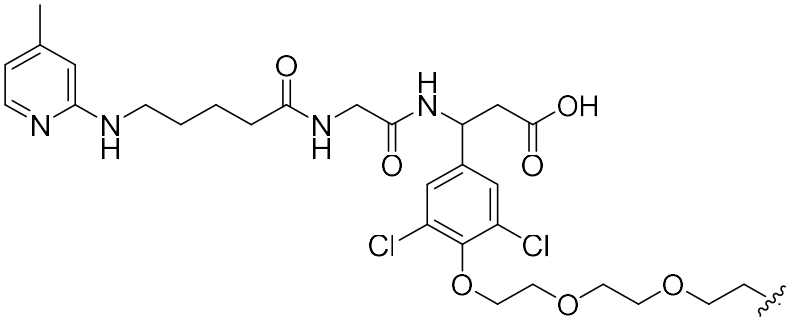
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0109] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 2b).

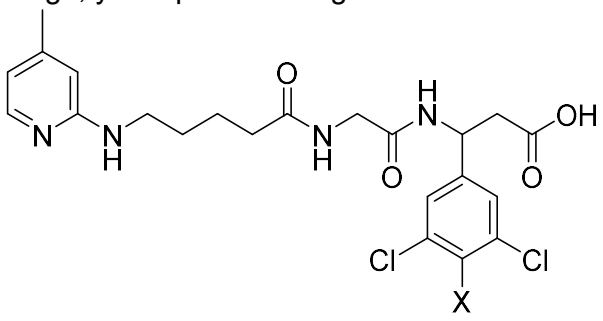
[0110] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 5)

[0111] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 5 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

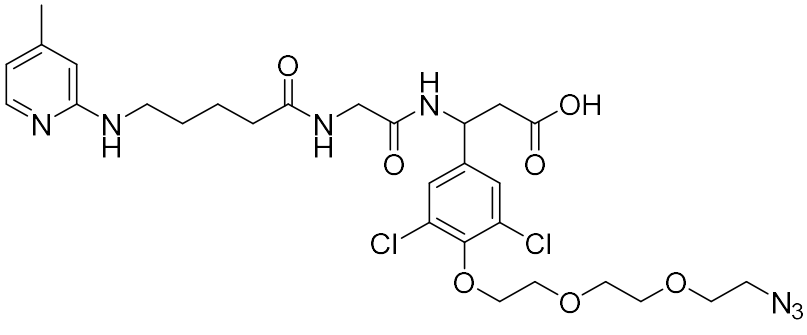
[0112] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 5a),

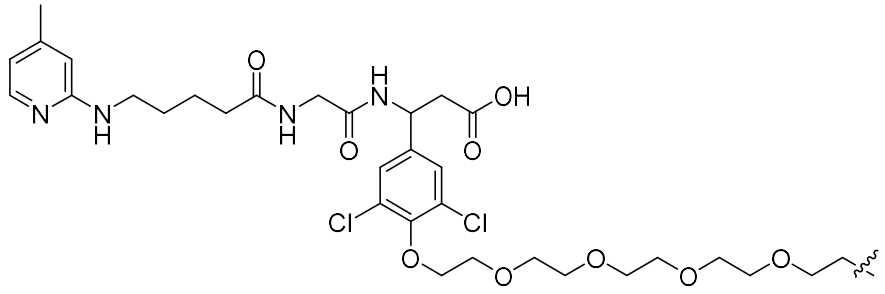
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0113] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



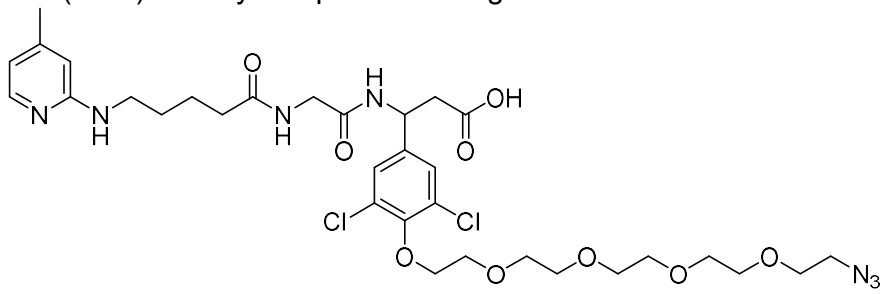
(Estructura 5b)

[0114] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 5.1).

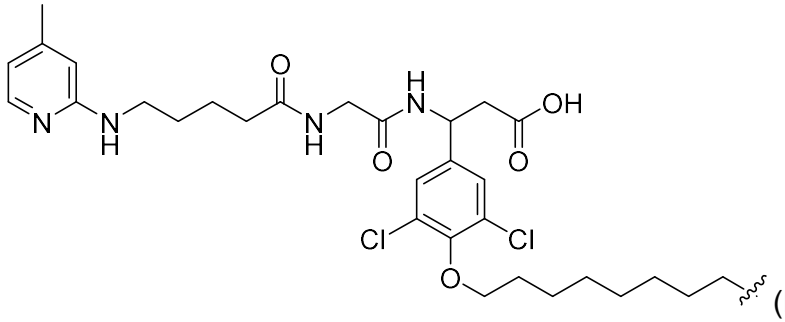
[0115] En las realizaciones, la longitud del PEG en el grupo reactivo de PEG-azida puede variar. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 de la Estructura 5.1 se pueden sintetizar para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida y comprenden la siguiente estructura:



(Estructura 5.1b).

[0116] Se puede usar un grupo reactivo (o grupo reactivo protegido) para facilitar la conjugación del ligando de integrina αvβ6 a una molécula de interés, p. ej., a una molécula de carga (directamente o mediante uno o más andamios y/o conector).

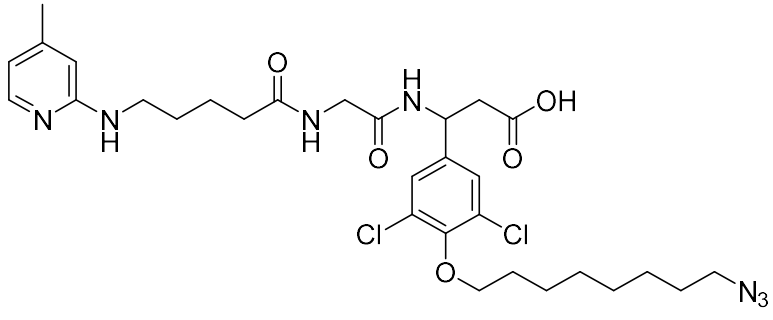
[0117] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 5,2)

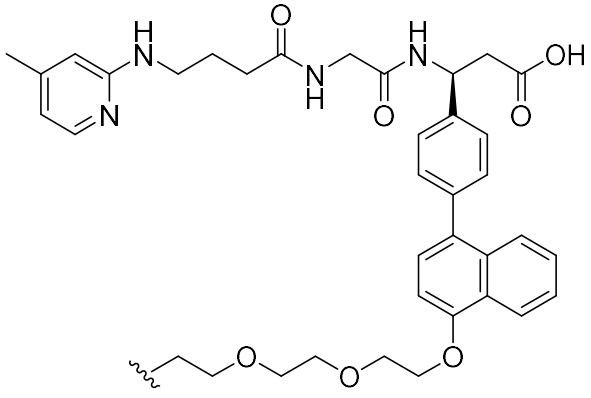
[0118] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 5,2 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

[0119] En algunas realizaciones, un grupo reactivo de PEG-azida puede reemplazarse con un grupo reactivo de alquilo-azida. En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de alquilo-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 5.2b)

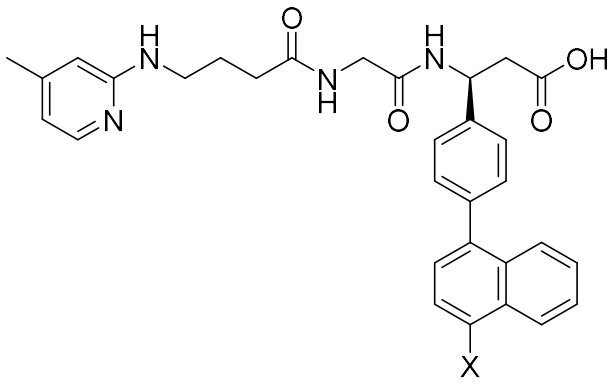
[0120] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6)

[0121] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 6 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

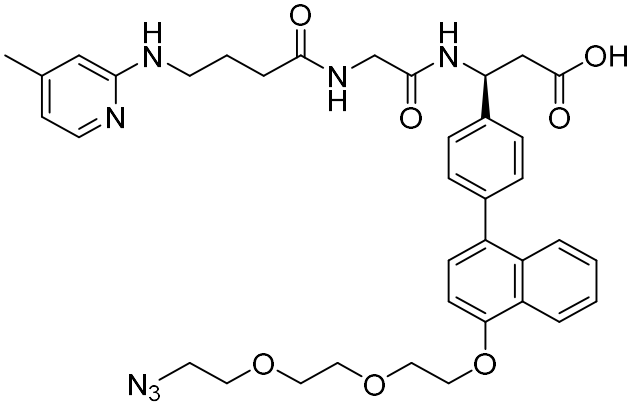
[0122] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6a),

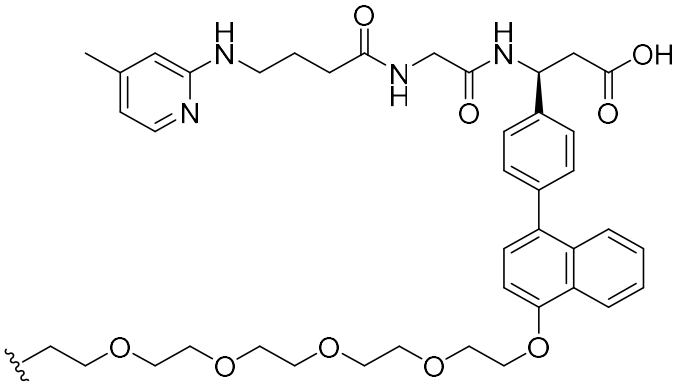
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0123] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6b)

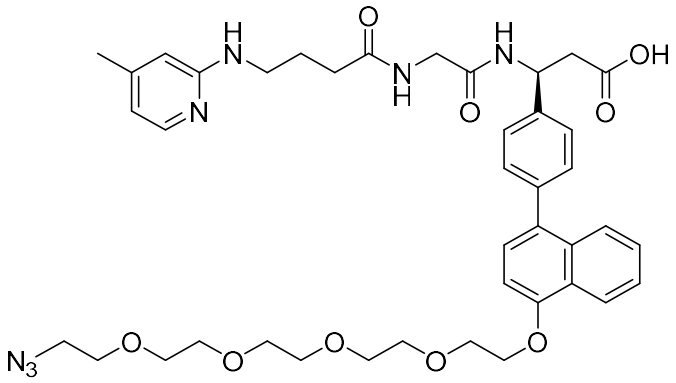
[0124] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6.1)

[0125] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 6,1 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

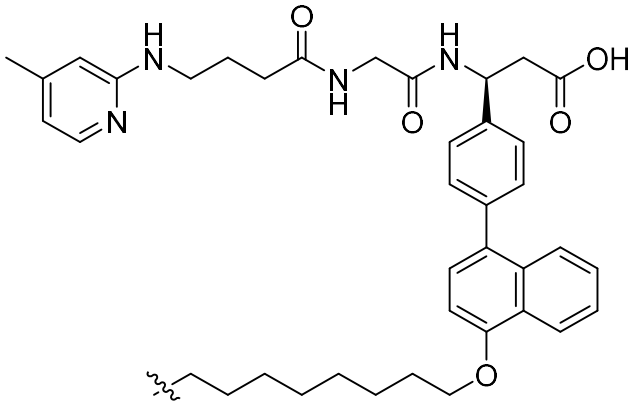
[0126] En las realizaciones, la longitud del PEG en el grupo reactivo de PEG-azida puede variar. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 se pueden sintetizar para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida y comprenden la siguiente estructura:



(Estructura 6.1b)

[0127] Se puede usar un grupo reactivo (o grupo reactivo protegido) para facilitar la conjugación del ligando de integrina αvβ6 a una molécula de interés, p. ej., a una molécula de carga (directamente o mediante uno o más andamios y/o conector).

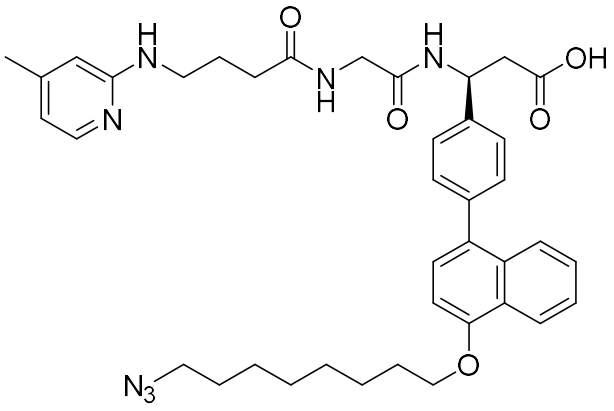
[0128] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6,2)

[0129] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 6,2 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

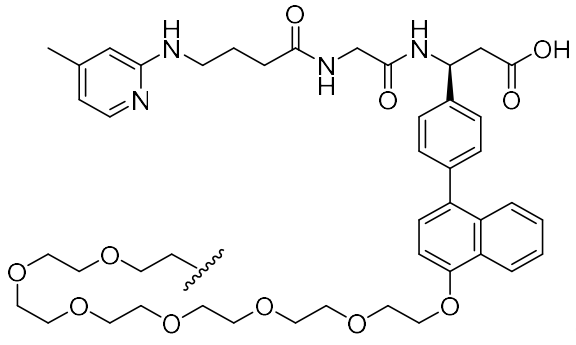
[0130] En algunas realizaciones, un grupo reactivo de PEG-azida puede reemplazarse con un grupo reactivo de alquilo-azida. En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de alquilo-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6.2b)

[0131] Se puede usar un grupo reactivo (o grupo reactivo protegido) para facilitar la conjugación del ligando de integrina αvβ6 a una molécula de interés, p. ej., a una molécula de carga (directamente o mediante uno o más andamios y/o conector).

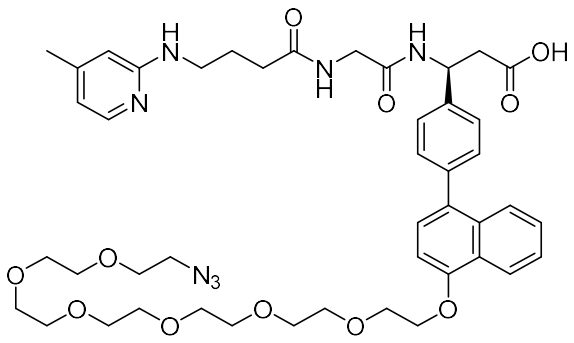
[0132] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6,3)

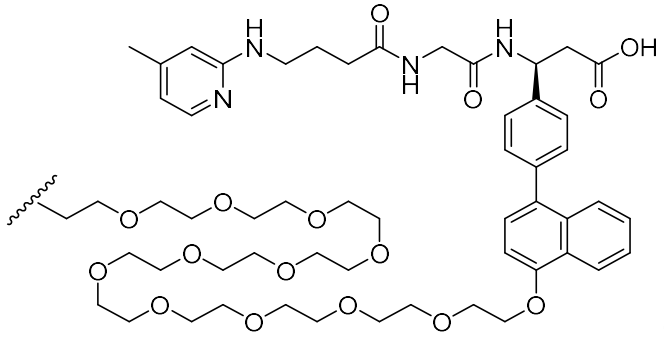
[0133] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 6,3 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

[0134] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga. En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 pueden sintetizarse para incluir un grupo reactivo de azida, y comprenden la siguiente estructura:



(Estructura 6.3b)

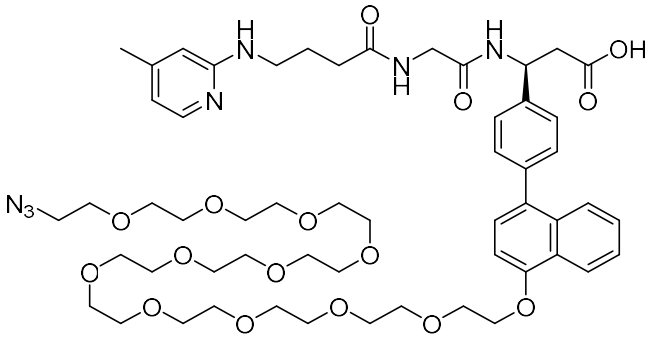
[0135] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6,4)

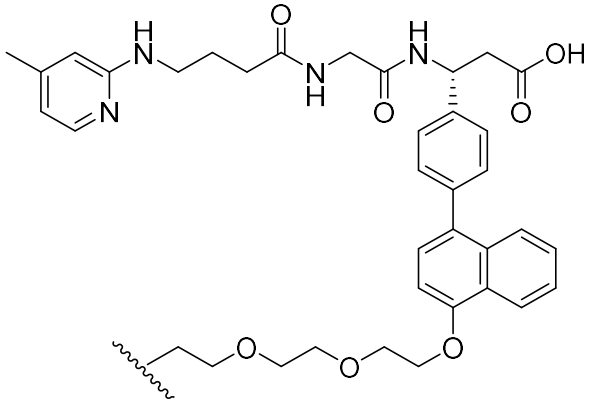
[0136] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 6,4 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

[0137] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 6.4b)

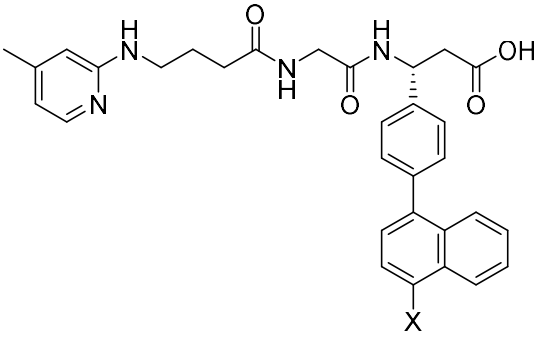
[0138] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 7)

[0139] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 7 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

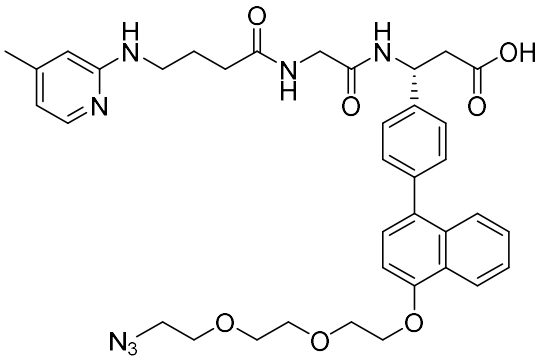
[0140] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 7a),

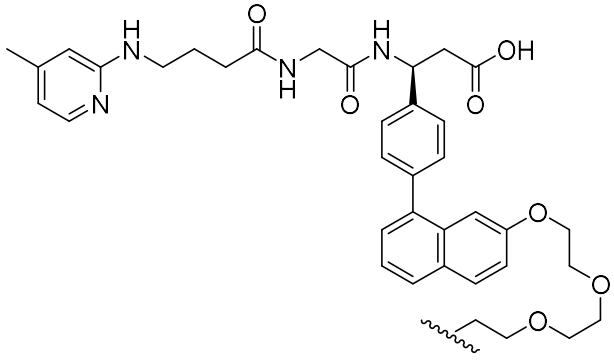
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0141] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de PEG-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 7b)

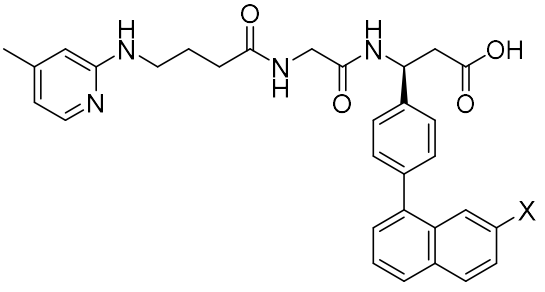
[0142] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 8)

[0143] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 8 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

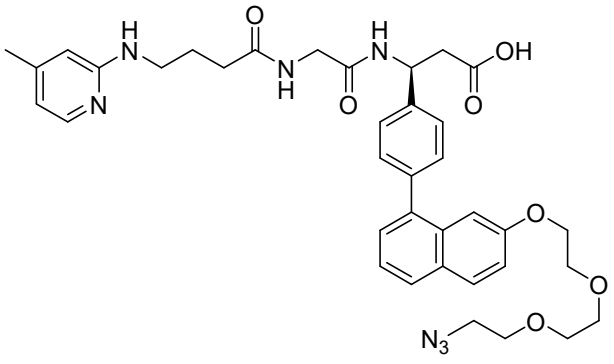
[0144] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 8a),

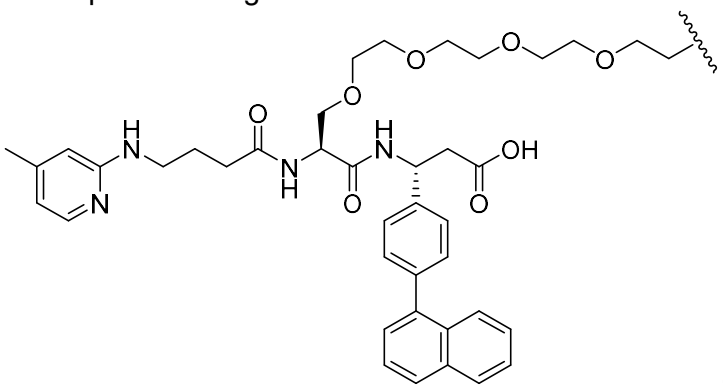
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0145] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de PEG-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 8b)

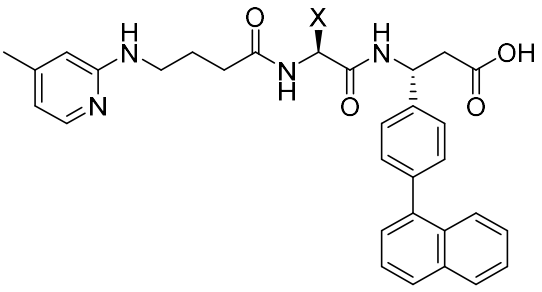
[0146] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 9)

[0147] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 9 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

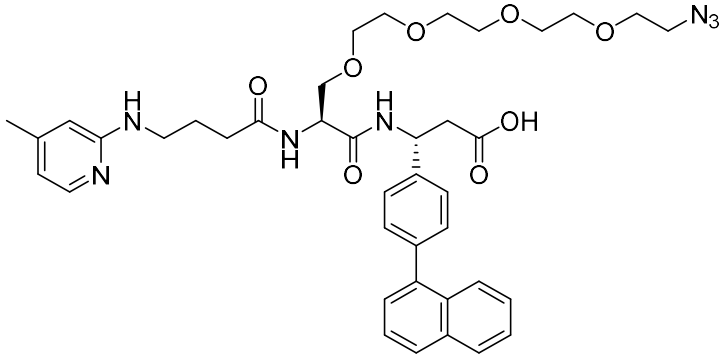
[0148] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 9a),

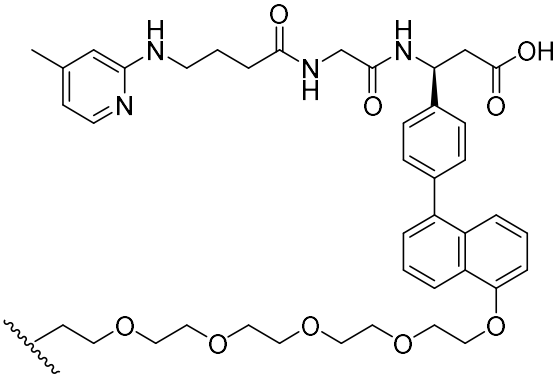
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0149] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 9b)

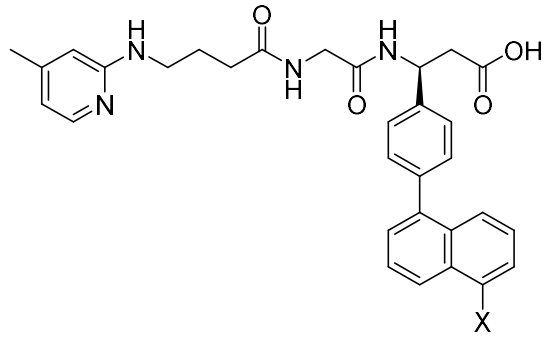
[0150] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 10)

[0151] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 10 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

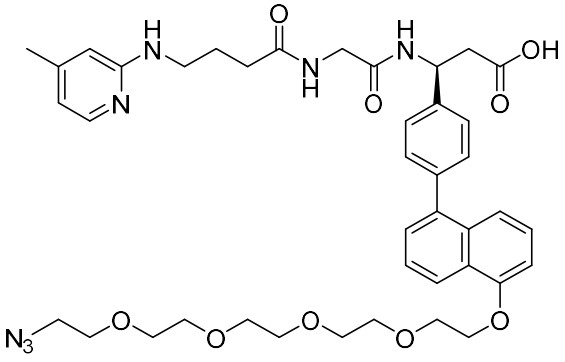
[0152] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 10a),

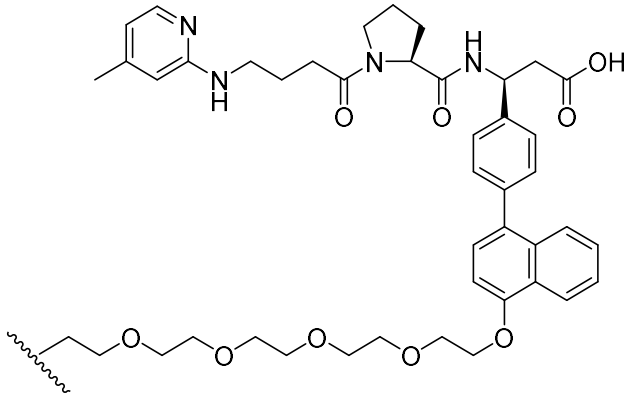
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0153] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 10b)

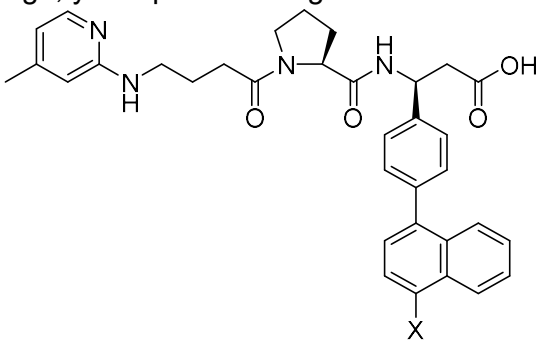
[0154] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 11)

[0155] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 11 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

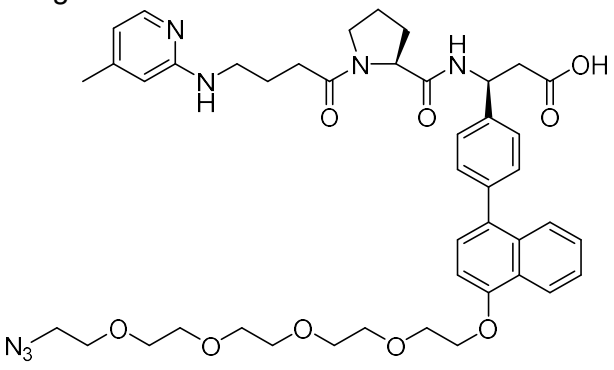
[0156] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 11a),

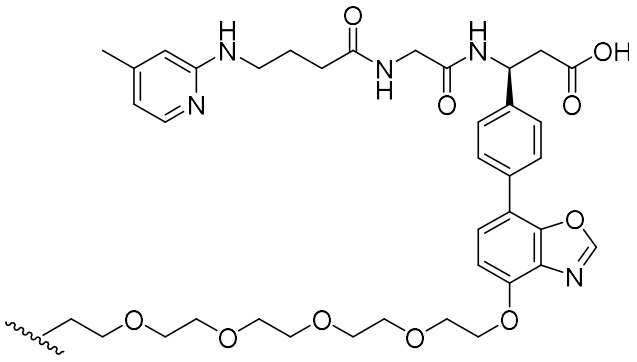
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0157] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 11b)

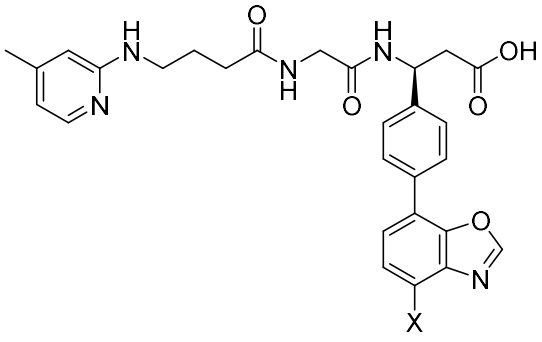
[0158] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 12)

[0159] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 12 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

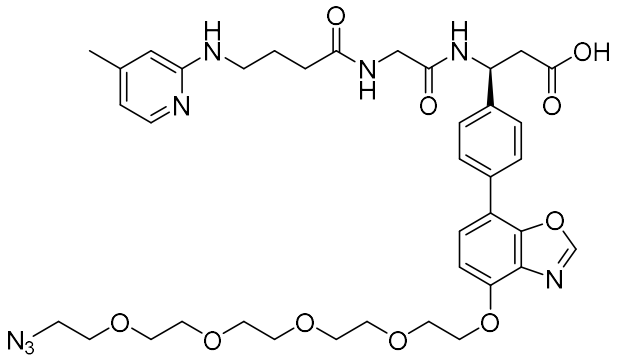
[0160] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 12a),

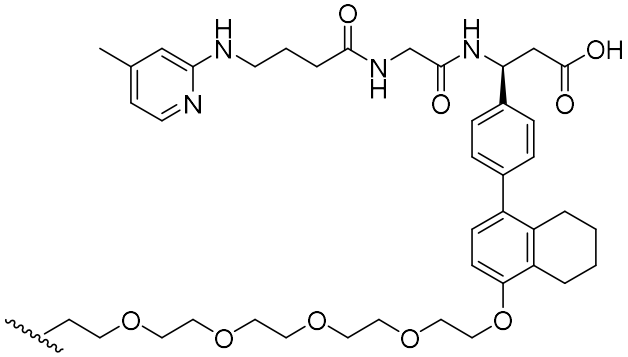
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0161] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 12b)

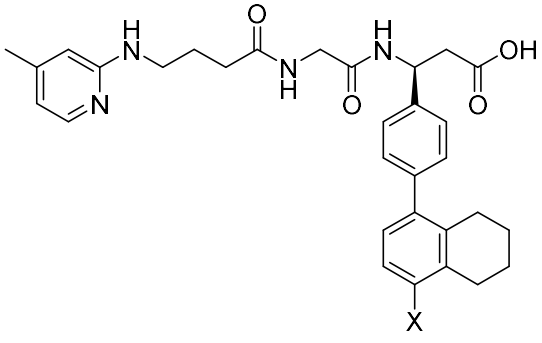
[0162] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 13)

[0163] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 13 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

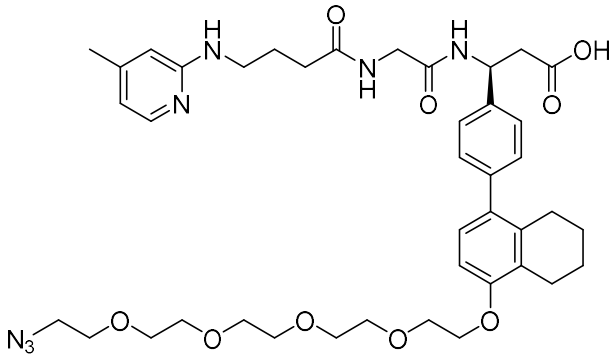
[0164] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 13a),

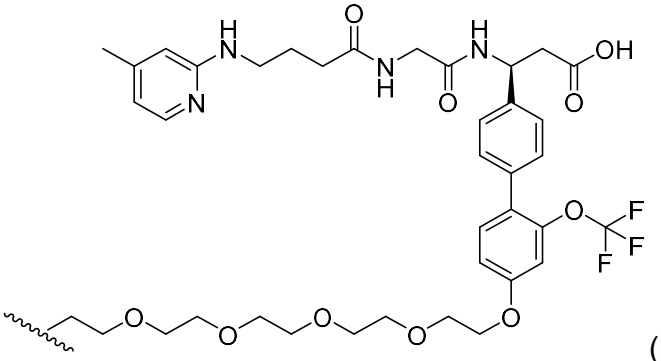
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0165] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 13b)

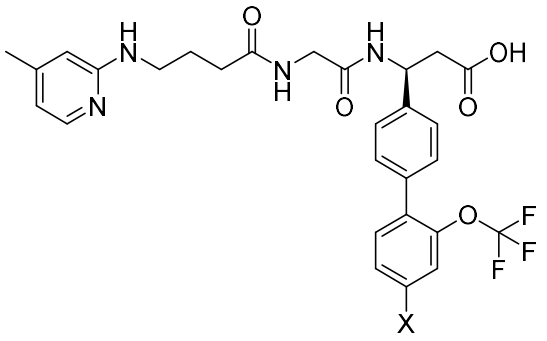
[0166] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 14)

[0167] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 14 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

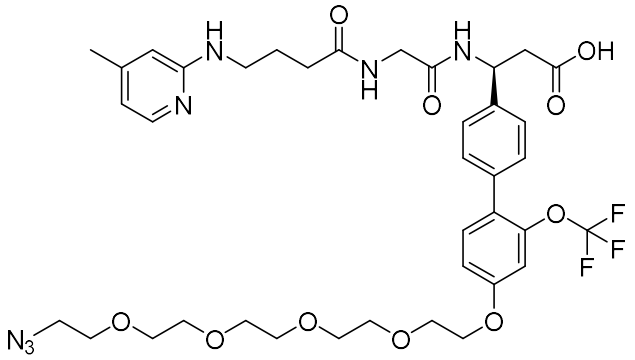
[0168] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 14a),

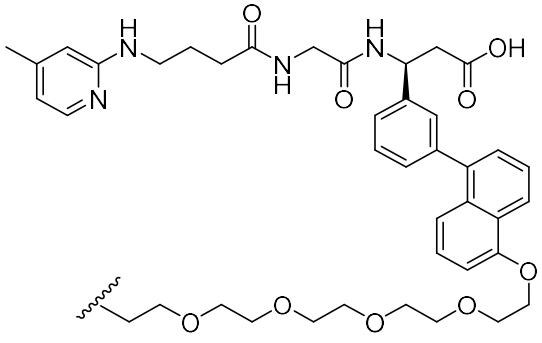
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0169] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 14b)

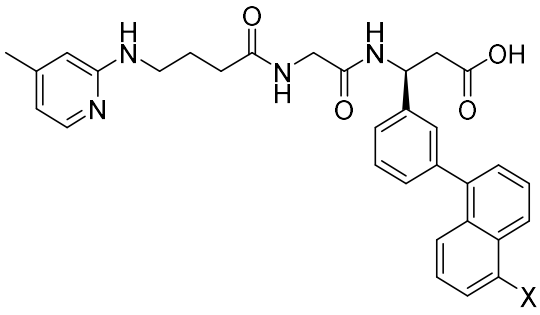
[0170] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 15)

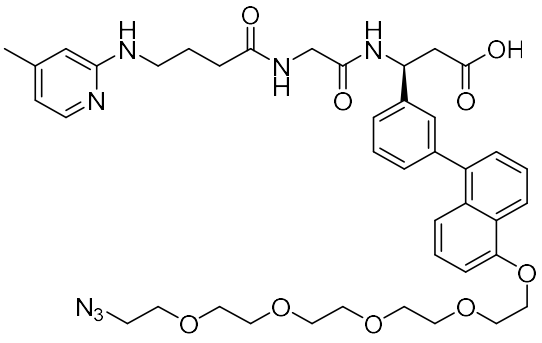
[0171] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 15 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

[0172] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:

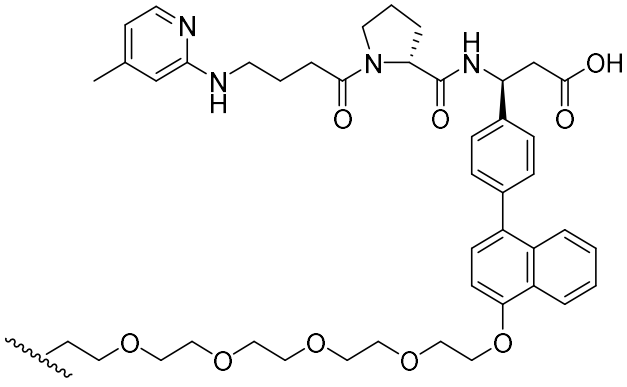

(Estructura 15a),

donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0173] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:

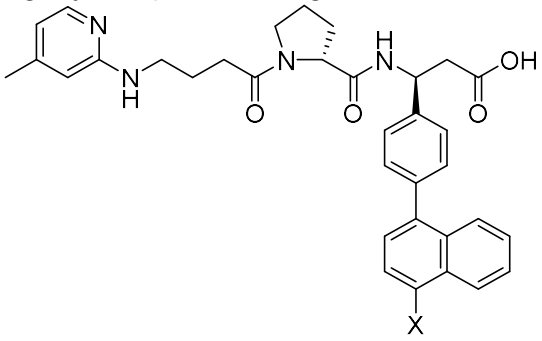

(Estructura 15b)

[0174] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:


(Estructura 16)

[0175] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 16 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

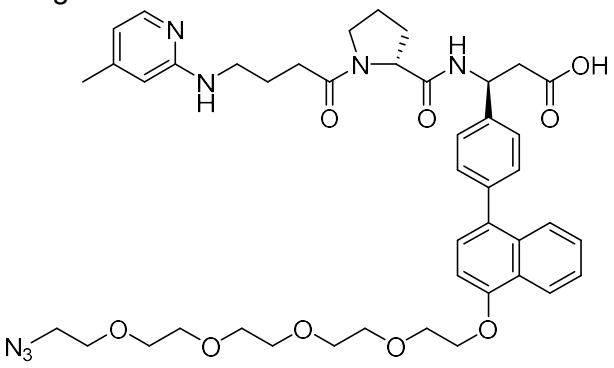
[0176] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 16a),

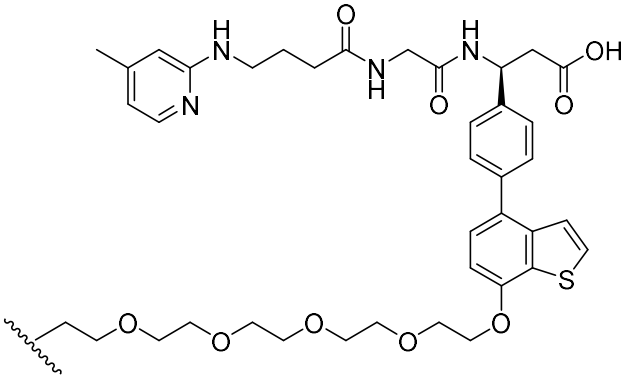
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0177] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 16b)

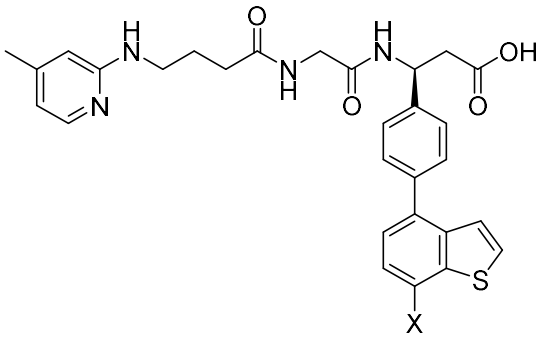
[0178] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 17)

[0179] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 17 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

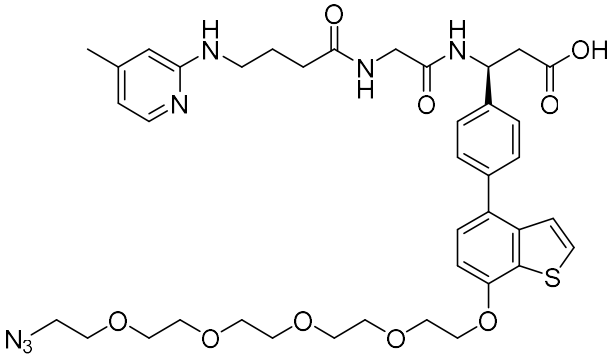
[0180] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 17a),

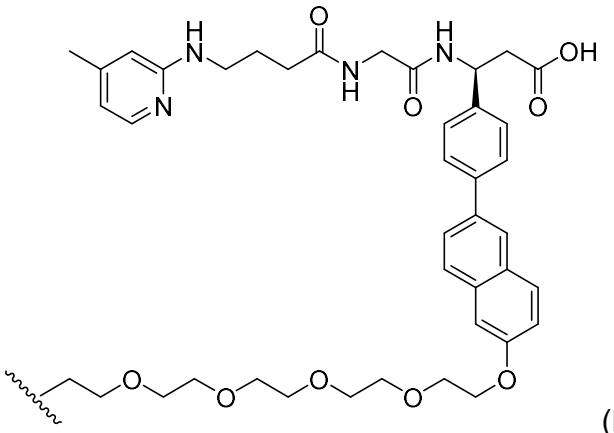
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0181] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 17b)

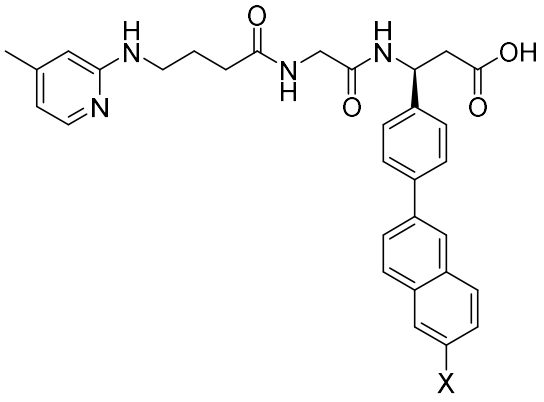
[0182] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 18)

[0183] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 18 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

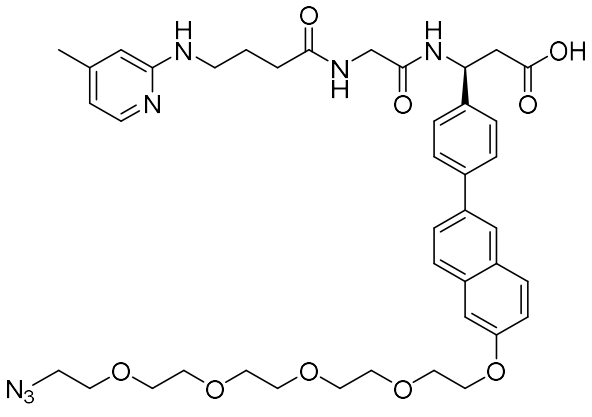
[0184] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 18a),

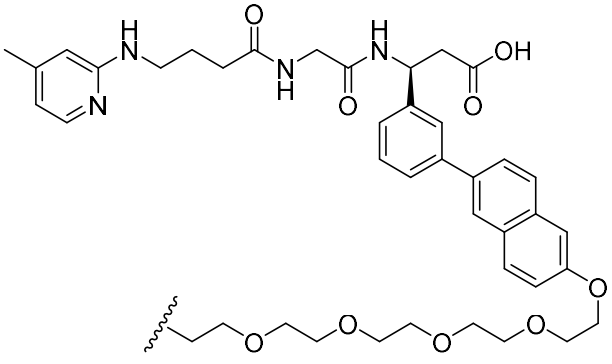
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0185] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 18b)

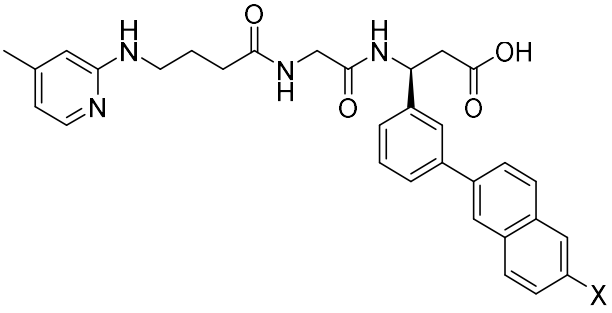
[0186] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 19)

[0187] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 19 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

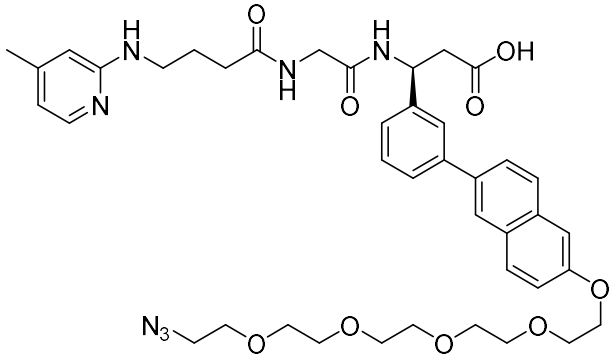
[0188] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 19a),

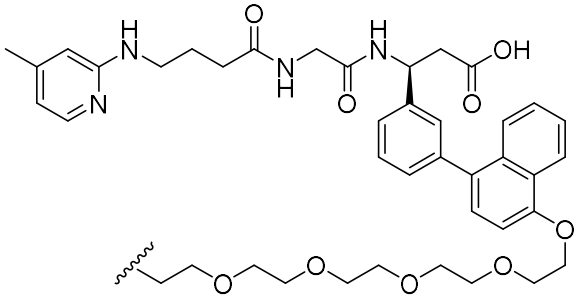
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0189] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 19b)

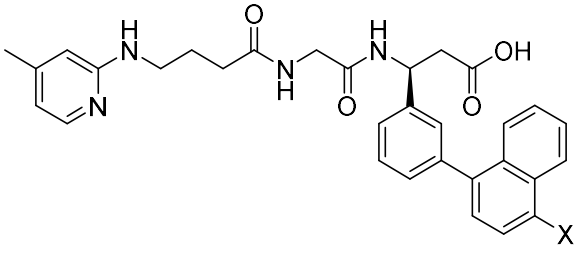
[0190] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 20)

[0191] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 20 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

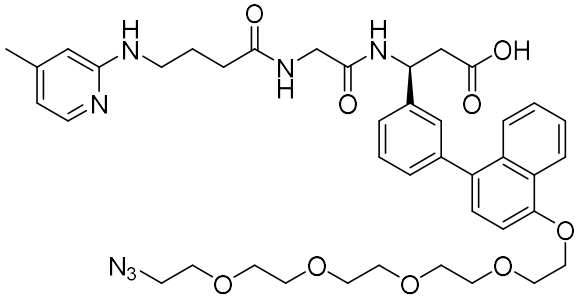
[0192] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 20a),

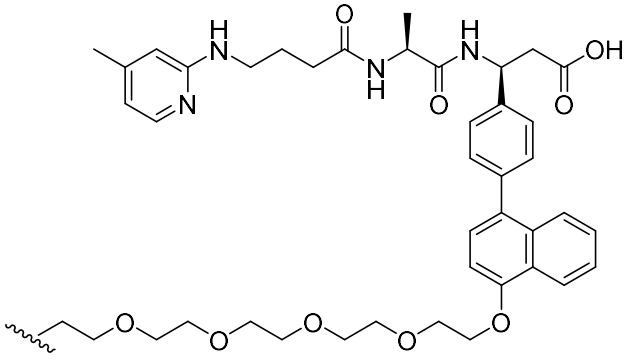
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0193] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 20b)

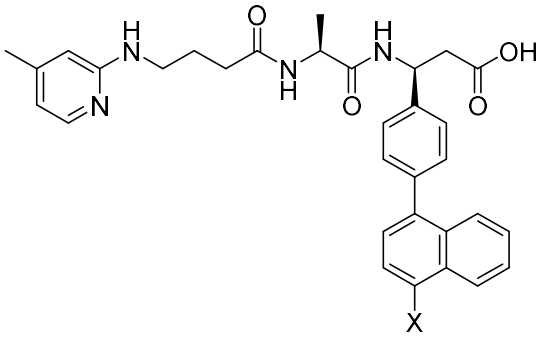
[0194] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 22)

[0195] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 22 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

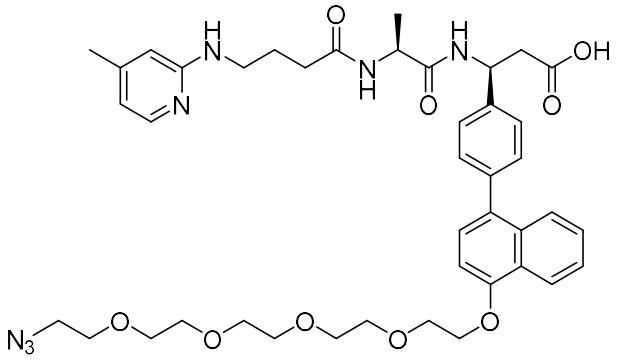
[0196] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 22a),

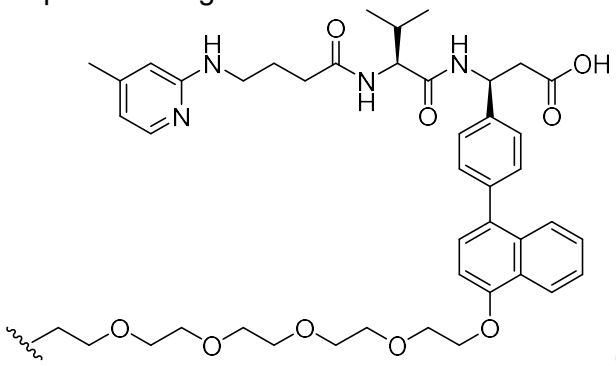
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0197] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 22b)

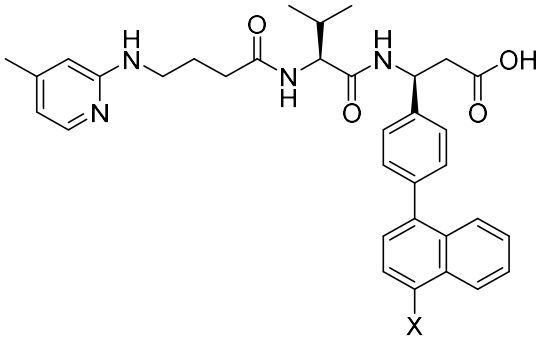
[0198] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 23)

[0199] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 23 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

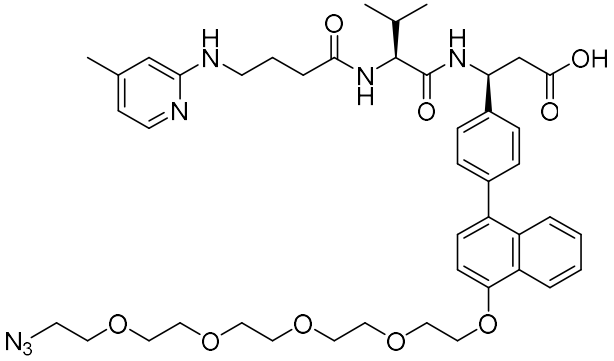
[0200] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 23a),

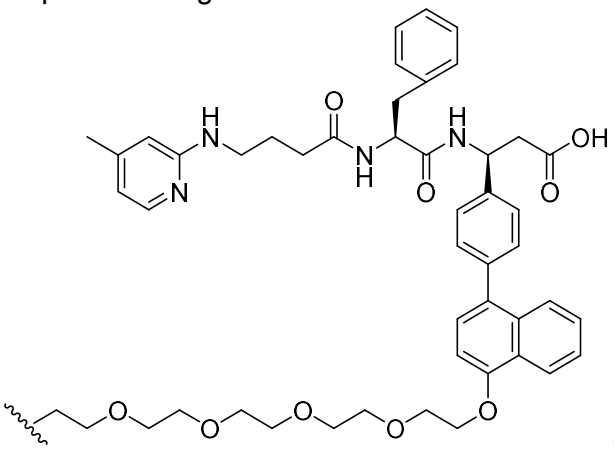
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0201] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 23b)

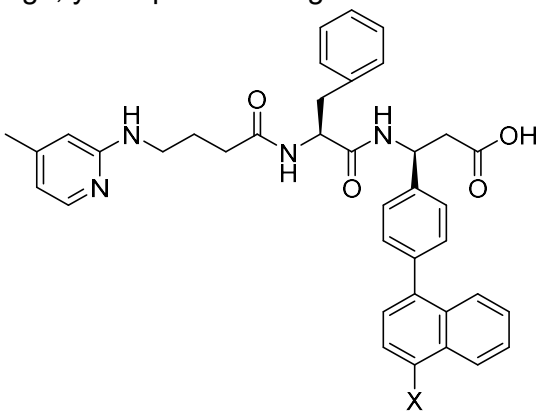
[0202] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 24)

[0203] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 24 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

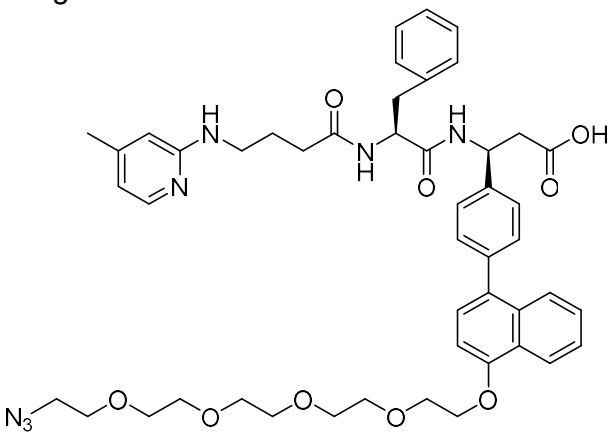
[0204] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 24a),

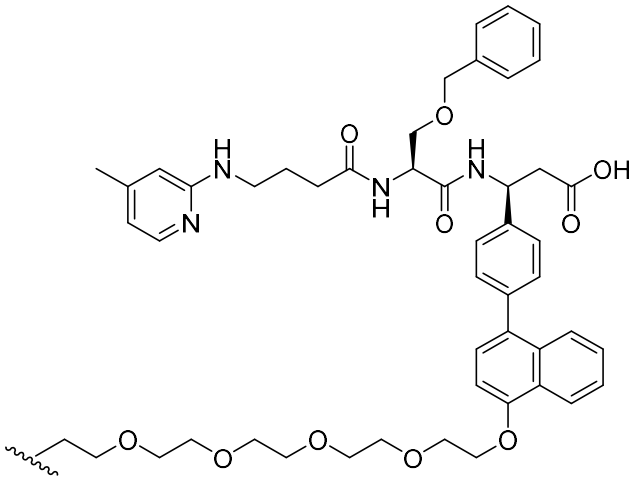
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0205] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 24b)

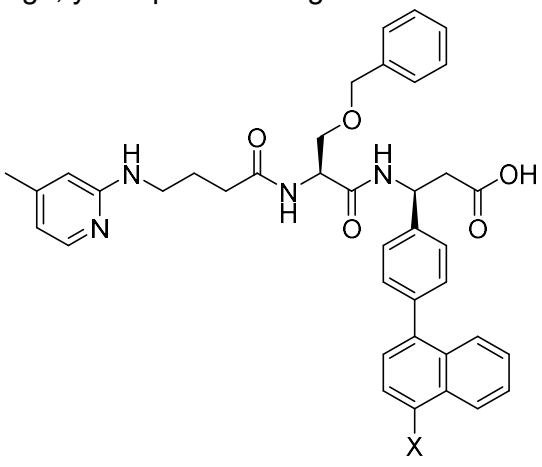
[0206] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 25)

[0207] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

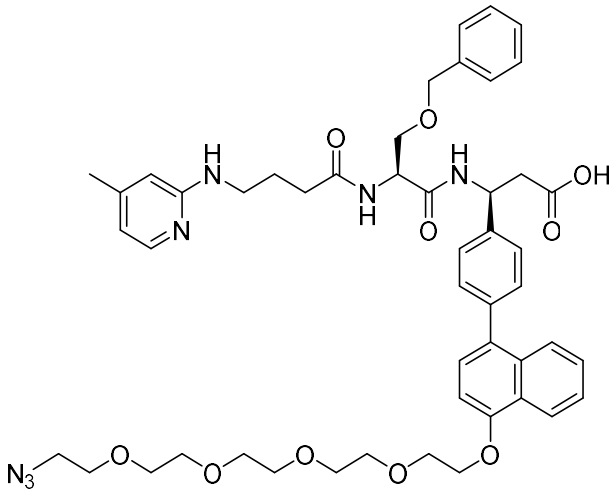
[0208] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 25a),

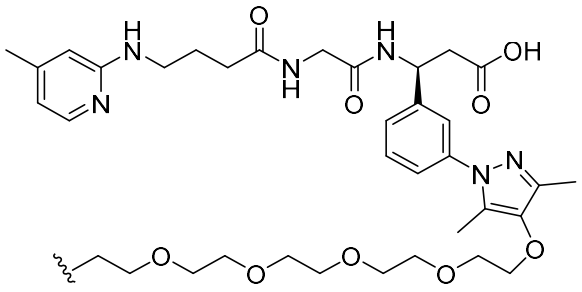
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0209] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 25b)

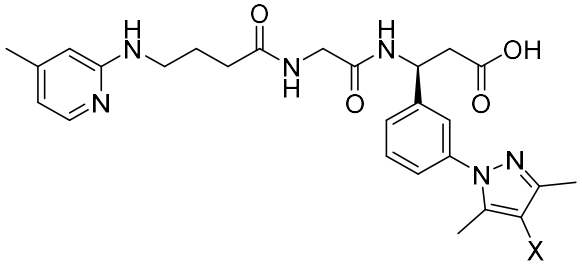
[0210] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 27)

[0211] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

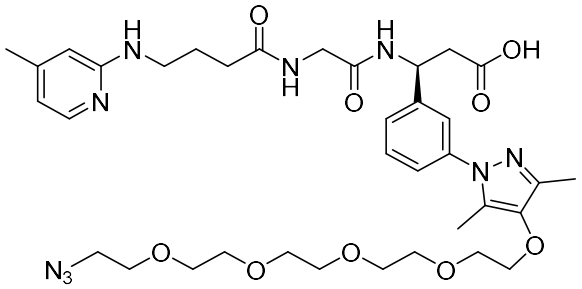
[0212] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 27a),

donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

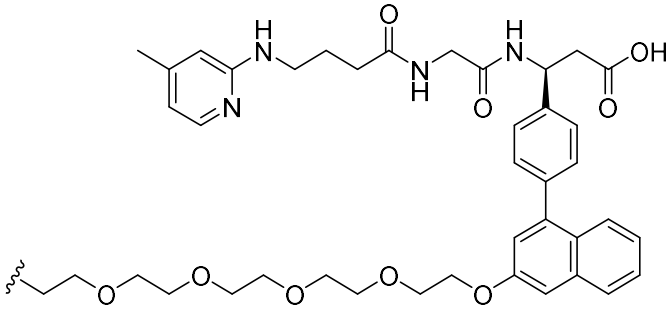
[0213] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 27b)

[0214] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:

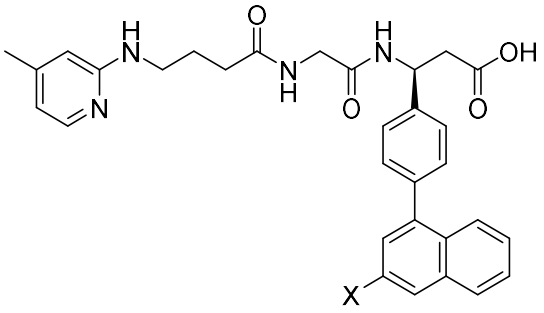
[0215] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 29)

[0216] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

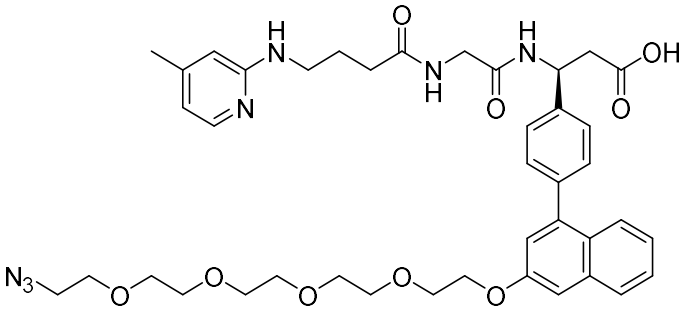
[0217] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 29a),

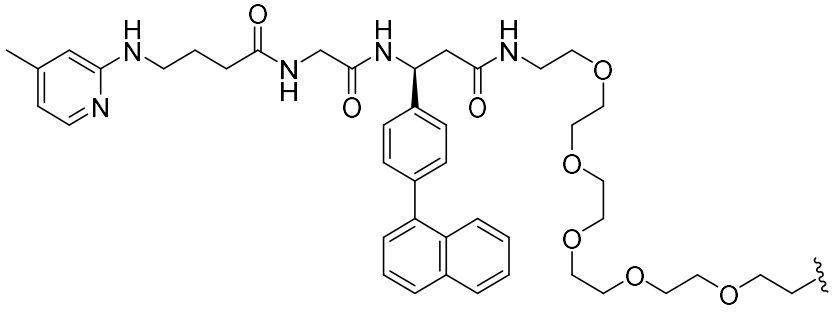
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0218] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 29b)

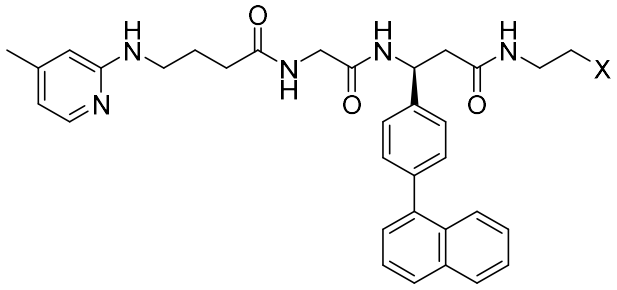
[0219] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 30)

[0220] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

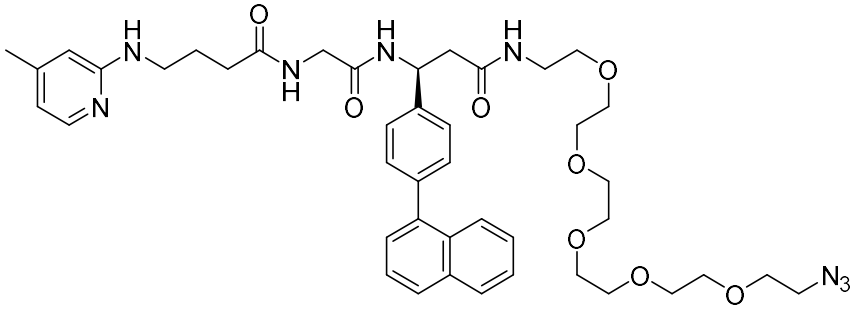
[0221] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 30a),

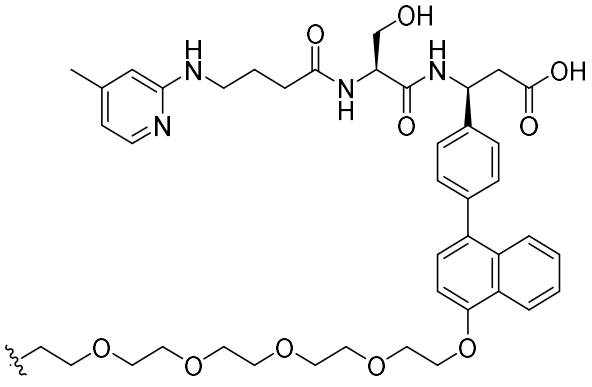
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0222] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 30b)

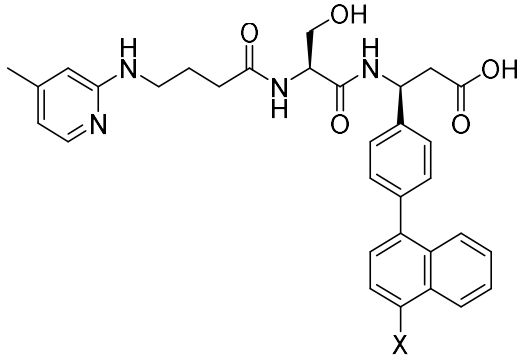
[0223] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 31)

[0224] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

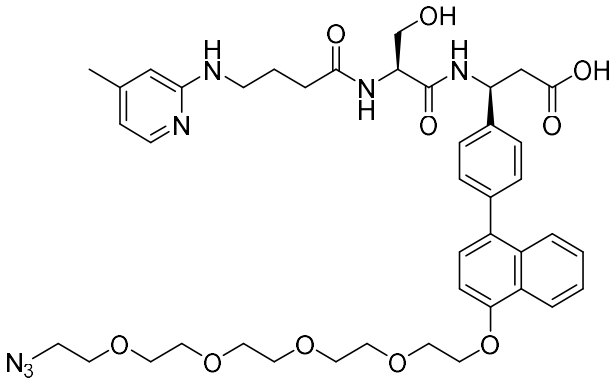
[0225] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 31a),

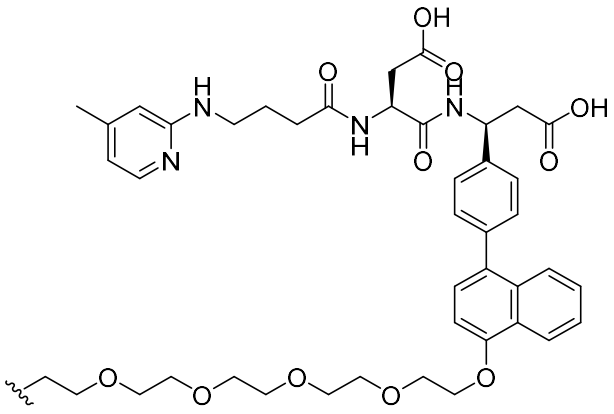
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0226] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 31b)

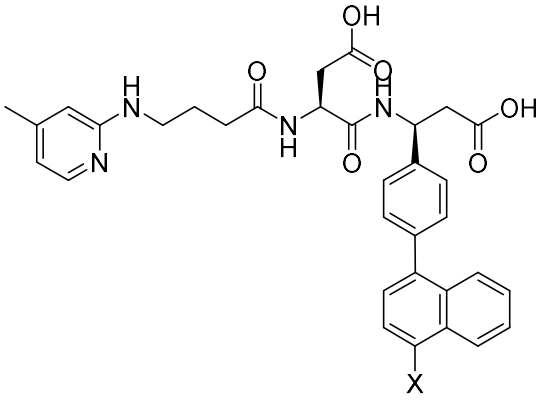
[0227] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 32)

[0228] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

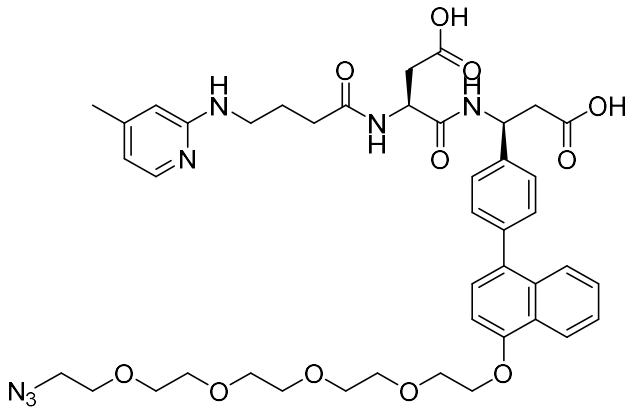
[0229] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 32a),

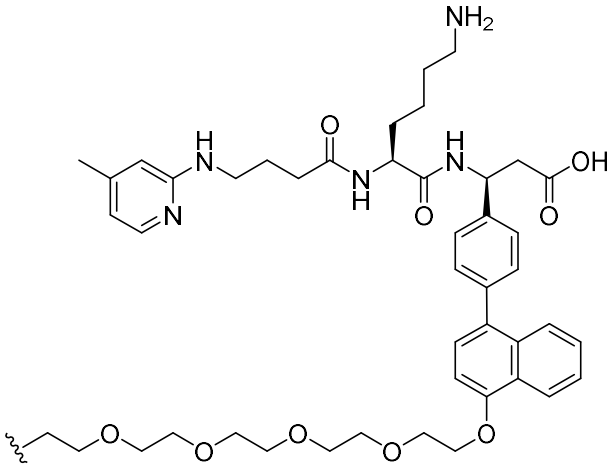
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0230] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 32b).

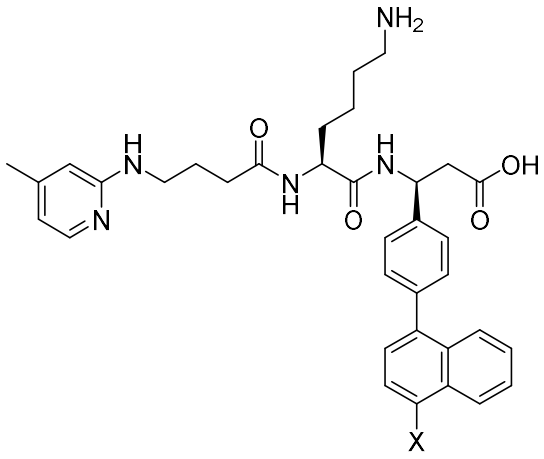
[0231] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 33)

[0232] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

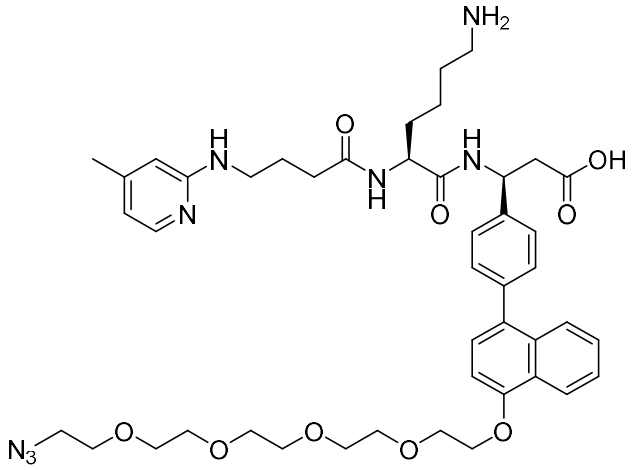
[0233] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 33a),

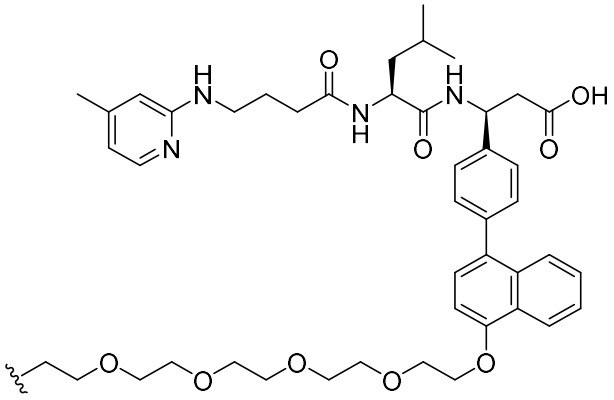
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0234] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 33b).

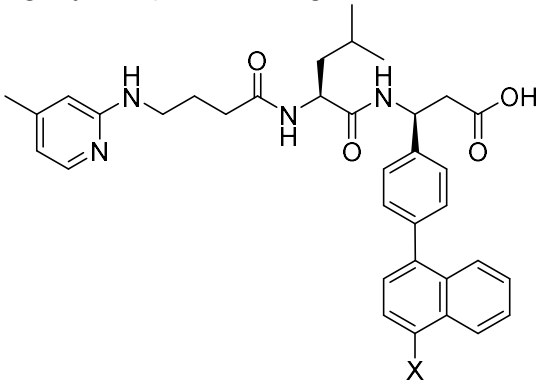
[0235] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 34)

[0236] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

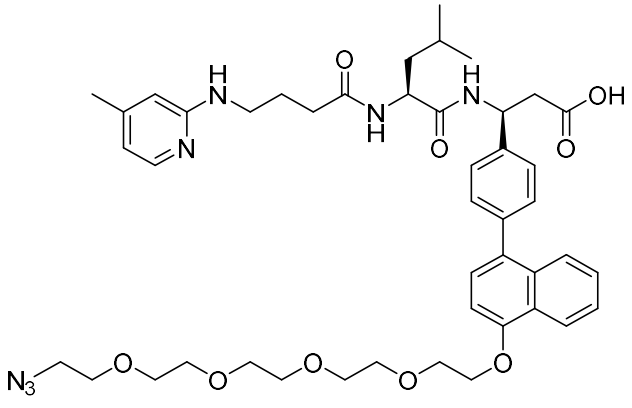
[0237] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 34a),

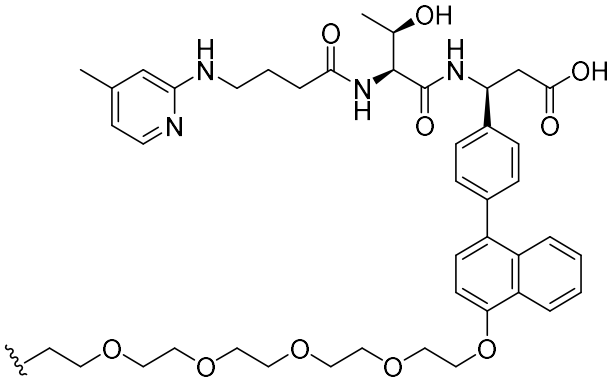
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0238] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 34b)

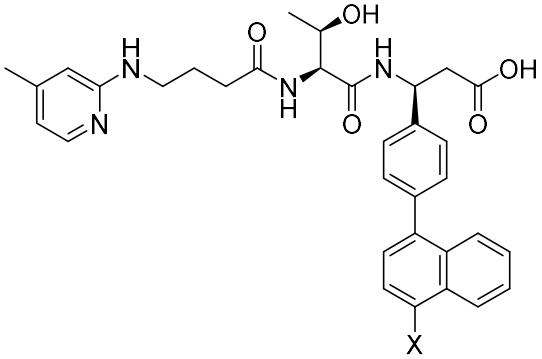
[0239] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 35)

[0240] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

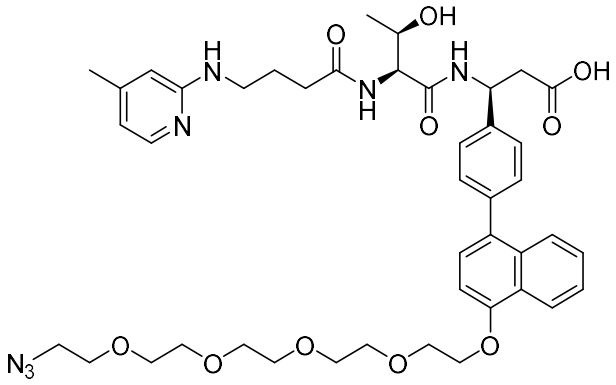
[0241] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 35a),

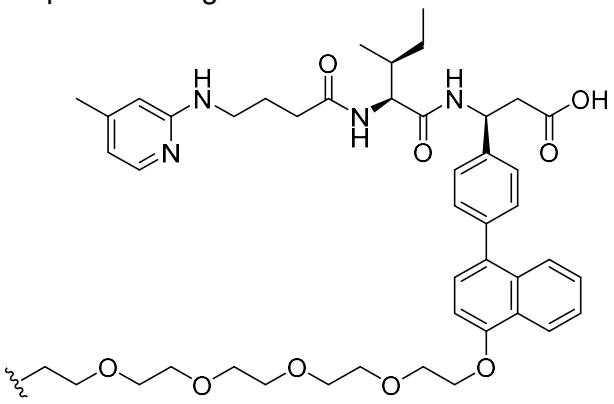
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0242] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 35b)

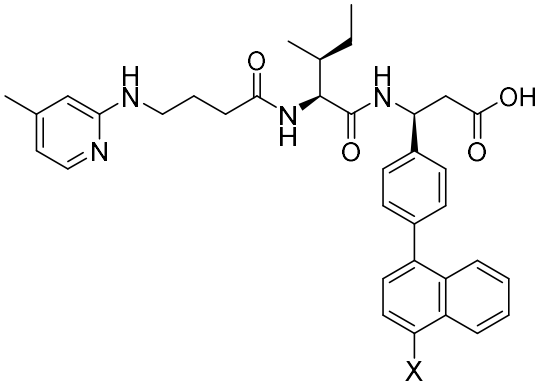
[0243] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 36)

[0244] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

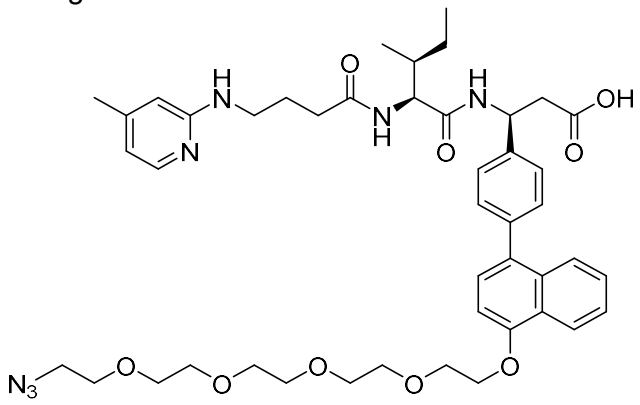
[0245] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 36a),

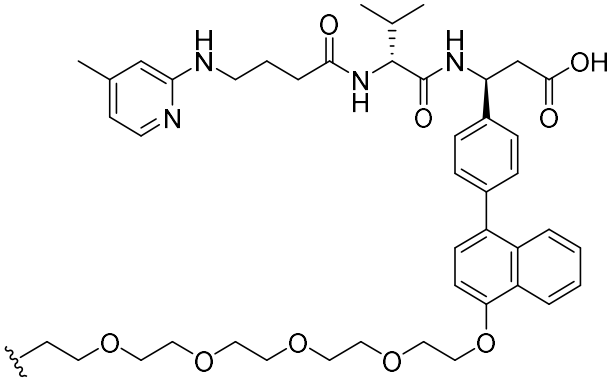
donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0246] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 36b)

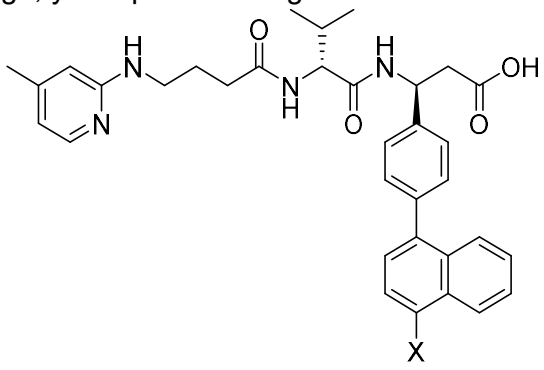
[0247] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la siguiente estructura:



(Estructura 37)

[0248] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 25 está unido a una o más moléculas de carga (p. ej., agente(s) de ARNi).

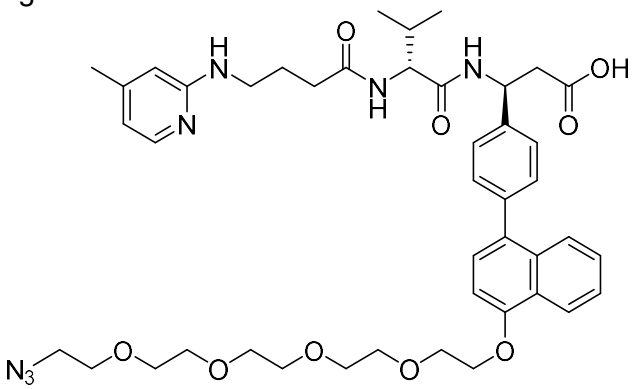
[0249] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 37a),

donde X incluye un grupo reactivo, un grupo reactivo protegido o una molécula de carga (p. ej., un agente de ARNi).

[0250] En algunas realizaciones, el ligando de integrina αvβ6 puede sintetizarse para incluir un grupo reactivo de polietilenglicol (PEG)-azida, y comprende la siguiente estructura:



(Estructura 37b)

[0251] El grupo reactivo como se describe en cualquiera de las siguientes: Estructura 1a, Estructura 1b, Estructura 2a, Estructura 2b, Estructura 5a, Estructura 5b, Estructura 6a, Estructura 6b, Estructura 7a, Estructura 7b, Estructura 8a, Estructura 8b, Estructura 9a, Estructura 9b, Estructura 10a, Estructura 10b, Estructura 11a, Estructura 11b, Estructura 12a, Estructura 12b,

Estructura 13a, Estructura 13b, Estructura 14a, Estructura 14b, Estructura 15a, Estructura 15b, Estructura 16a, Estructura 16b, Estructura 17a, Estructura 17b, Estructura 18a , Estructura 18b, Estructura 19a, Estructura 19b, Estructura 20a, Estructura 20b, Estructura 22a, Estructura 22b, Estructura 23a, Estructura 23b, Estructura 24a, Estructura 24b, Estructura 25a, Estructura 25b, Estructura 27a, Estructura 27b, Estructura 29a, Estructura 29b, Estructura 30a, Estructura 30b, Estructura 31a, Estructura 31b, Estructura 32a, Estructura 32b, Estructura 33a, Estructura 33b, Estructura 34a, Estructura 34b, Estructura 35a, Estructura 35b, Estructura 36a, Estructura 36b, Estructura 37a o Estructura 37b puede utilizarse para unir el ligando de integrina αvβ6 a una molécula de interés, es decir, a una molécula de carga tal como un agente de ARNi. La molécula de carga puede ser cualquier molécula que se desee dirigir a una célula que expresa la integrina αvβ6.

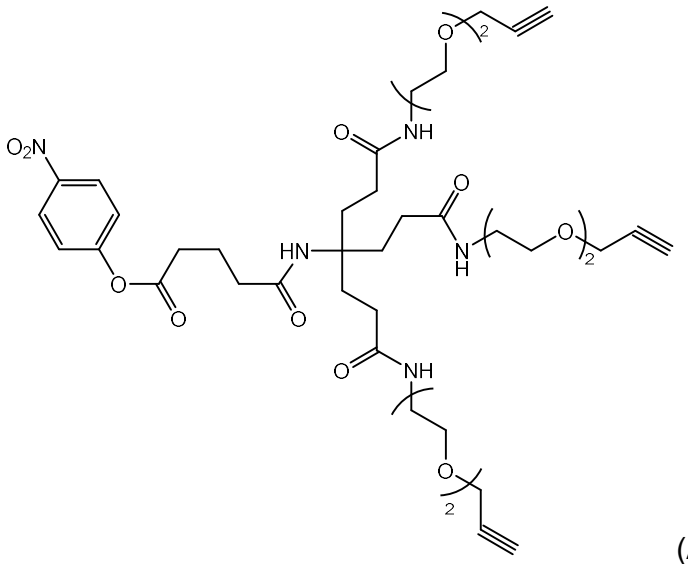
Andamios y ligandos de Integrina αvβ6 multidentados

[0252] Como se describe en la presente, en algunas realizaciones, uno o más ligandos de integrina αvβ6 pueden estar unidos a una o más moléculas de carga. En algunas realizaciones, solo un ligando de integrina αvβ6 se conjuga con una molécula de carga (denominada en la presente como ligando “monodentado” o “monovalente”). En algunas realizaciones, dos ligandos de integrina αvβ6 se conjugan con una molécula de carga (denominada en la presente como ligando “bidentado” o “divalente”). En algunas realizaciones, tres ligandos de integrina αvβ6 se conjugan con una molécula de carga (denominada en la presente como ligando “tridentado” o “trivalente”). En algunas realizaciones, cuatro ligandos de integrina αvβ6 se conjugan con una molécula de carga (denominada en la presente como ligando “tetradentado” o “tetravalente”). En algunas realizaciones, más de cuatro ligandos de integrina αvβ6 se conjugan con una molécula de carga.

[0253] En algunas realizaciones, donde solo un ligando de integrina αvβ6 se conjuga con una molécula de carga (denominada en la presente como ligando “monodentado”), el ligando de integrina αvβ6 puede conjugarse directamente con la molécula de carga. En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente puede conjugarse con una molécula de carga a través de un andamio u otra estructura de enlace.

[0254] En algunas realizaciones, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente incluyen uno o más andamios. Los andamios, también denominados a veces en la técnica como grupos de enlace o conectores, se pueden usar para facilitar el enlace de una o más moléculas de carga a uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí. Los andamios útiles compatibles con los ligandos descritos en la presente son generalmente conocidos en la técnica. Los ejemplos no limitantes de andamios que se pueden usar con los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí incluye, a mero título enunciativo, polímeros y poliaminoácidos (p. ej., ácido bis-glutámico, poli-L-lisina, etc.). En algunas realizaciones, los andamios pueden incluir conectores o grupos de cisteína, DBCO-PEG_{1-24}-NHS, Propargil-PEG_{1-24}-NHS, y/o fracciones de DBCO y/o propargil multidentadas.

[0255] En algunas realizaciones, el andamio usado para unir uno o más ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente a una o más moléculas de carga tiene la siguiente estructura:

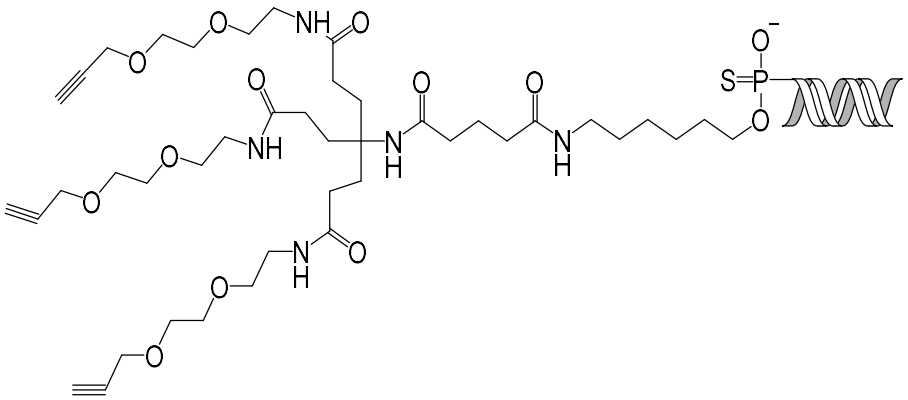


(Andamio 1)

[0256] El uso del Andamio 1, por ejemplo, facilita la conjugación eficiente tanto con los monómeros de ligando de integrina αvβ6 como con una o más moléculas de carga. El Andamio 1 incluye un éster de *p*-nitrofenol reactivo con amina (también llamado 4-nitrofenol), un enlace amida y tres unidades de PEG_2, así como alquinos terminales. El éster de 4-nitrofenol se puede conjugar con la amina primaria en una molécula de carga, como la amina primaria en un activador de ARN formulado con un grupo amina terminal (p. ej., NH_2-C_6), a través de la formación de amida. El alquino terminal se puede conjugar con ligandos modificados con azido (péptidos y moléculas pequeñas) a través de química clic catalizada por cobre.

[0257] En algunas realizaciones, la molécula de carga es un agente de ARNi. En algunas realizaciones, el Andamio 1 puede estar unido al extremo terminal de un agente de ARNi, tal como el extremo terminal 5' de la hebra codificante en sentido de un agente de ARNi. Por ejemplo, el extremo 5' terminal de la hebra codificante en sentido de un agente de ARNi puede modificarse para incluir una C_6 amina (-C_6-NH_2) unida al extremo 5' del nucleótido terminal 5' del agente de ARNi. Un agente de ARNi que tenga dicha modificación de amina C_6 (u otra modificación que resulte en una amina terminal) se puede conjugar

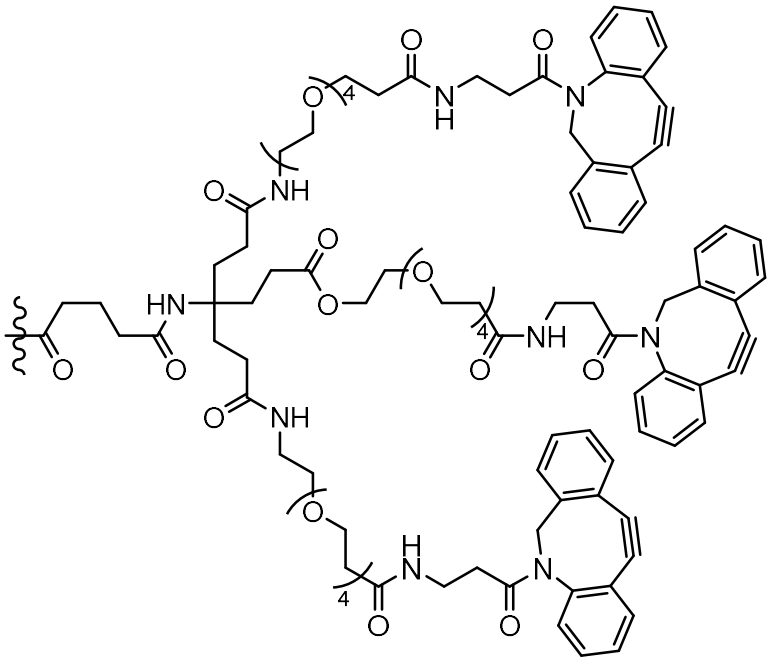
fácilmente con el Andamio 1, como se muestra en la representación en la siguiente estructura:



(Estructura 380), donde  indica un agente de ARNi.

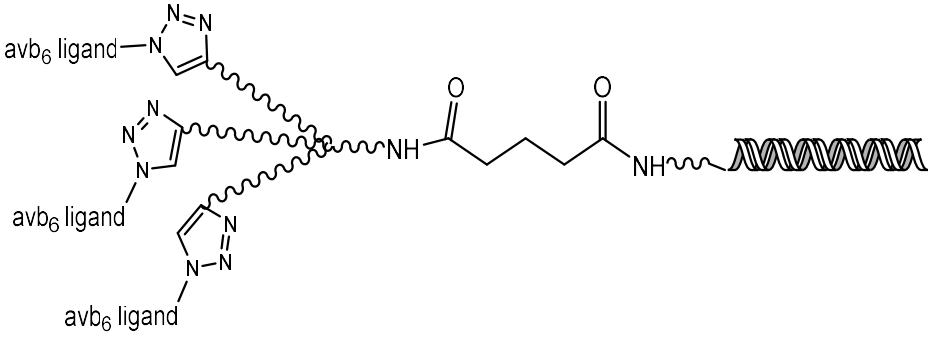
[0258] Los grupos alquino de la Estructura 380, anterior, pueden conjugarse luego con los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí para formar ligandos de integrina αvβ6 tridentados.

[0259] En algunas realizaciones, un andamio puede sintetizarse usando DBCO (dibenzociclooctino), que puede representarse mediante la siguiente estructura:



(Estructura 381), donde  indica la unión a un grupo reactivo o una fracción que comprende molécula de carga.

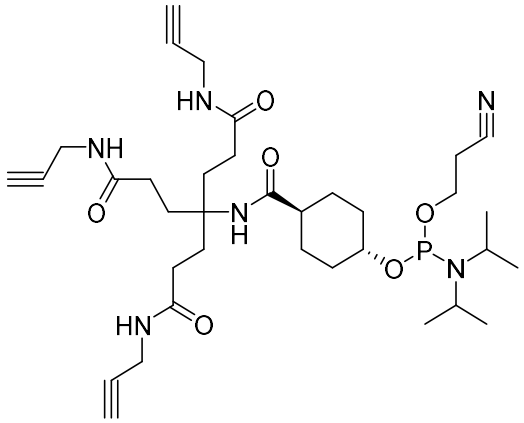
[0260] En algunas realizaciones, se forman grupos triazol entre el agente de ARNi y los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí, como se muestra en la siguiente estructura general:



(Estructura 390), donde  indica cualquier andamio o grupo de enlace adecuado que pueda usarse para unir un ligando a un agente de ARNi, y  indica un agente de ARNi.

[0261] En algunas realizaciones, un andamio puede sintetizarse como un compuesto de fosforamidita, lo que puede permitir que un ligando tridentado se acople fácilmente al extremo 5’ terminal de la hebra codificante en sentido de un

agente de ARNi a través de la síntesis de fosforamidita, como se muestra en la siguiente estructura:

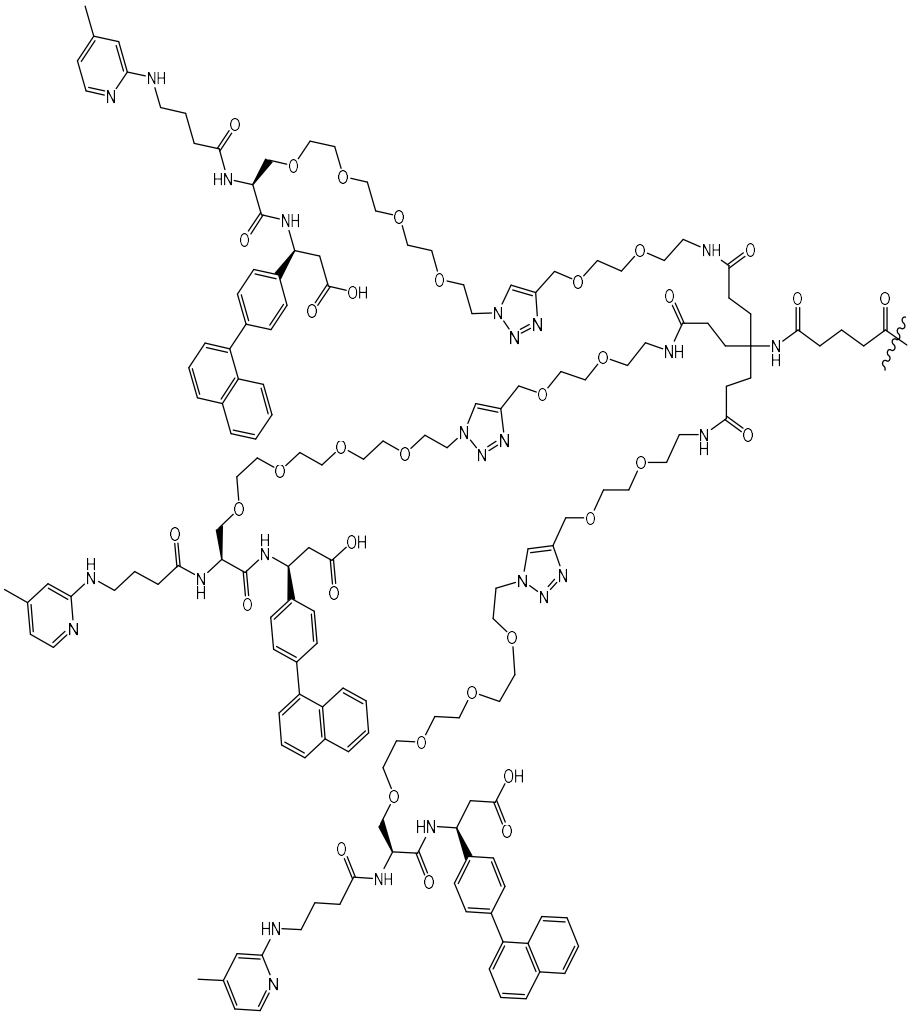


(Estructura 400).

[0262] Después de sintetizar para unir el compuesto de la Estructura 400 al extremo 5' terminal de la hebra codificante en sentido del agente de ARNi, los alquinos terminales pueden unirse a los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí.

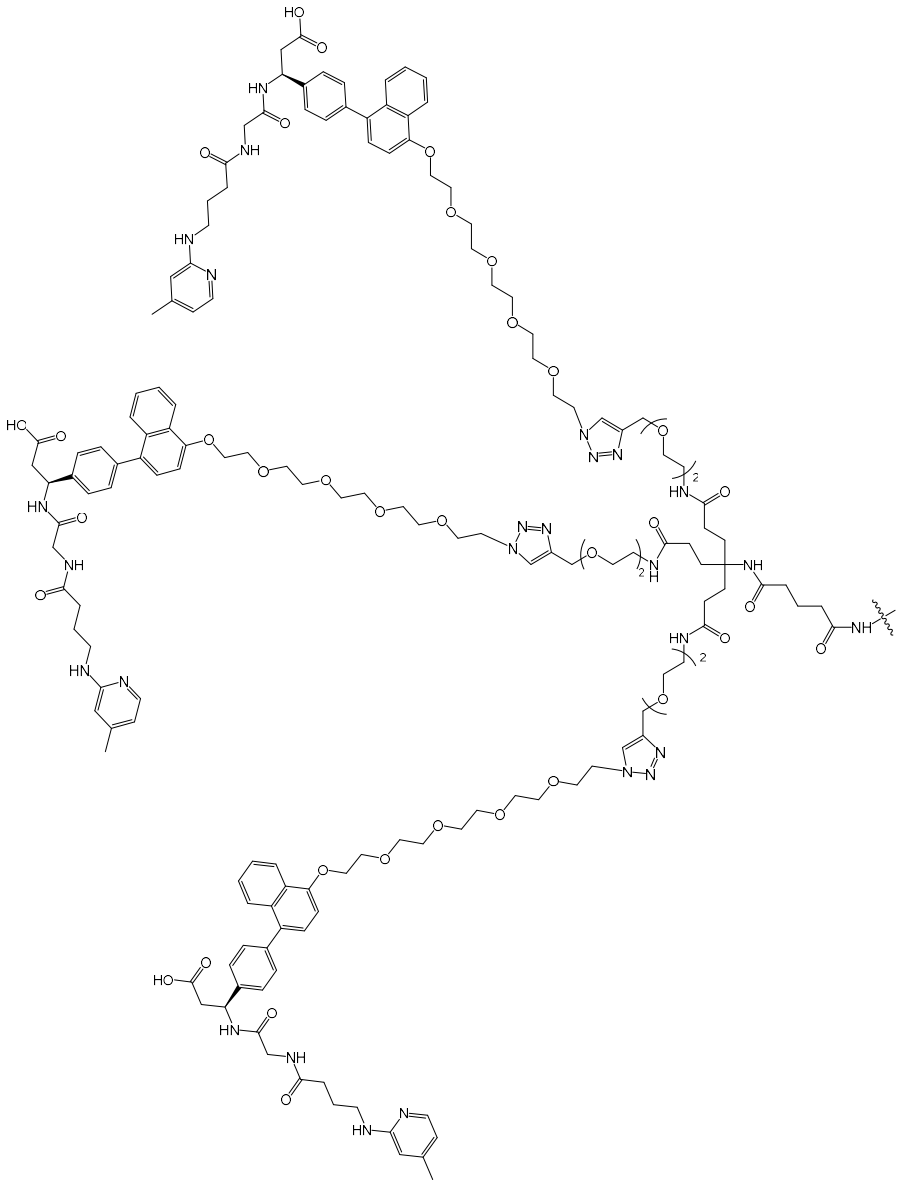
[0263] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 divulgado en la presente comprende la Estructura 1, la Estructura 2, la Estructura 5, la Estructura 5,1, Estructura 5,2, Estructura 6, Estructura 6.1, Estructura 6.2, Estructura 6,3, Estructura 6.4, Estructura 7, Estructura 8, Estructura 9, Estructura 10, Estructura 11, Estructura 12, Estructura 13, Estructura 14, Estructura 15, Estructura 16, Estructura 17, Estructura 18, Estructura 19, Estructura 20, Estructura 22, Estructura 23, Estructura 24, Estructura 25, Estructura 27, Estructura 29 , Estructura 30, Estructura 31, Estructura 32, Estructura 33, Estructura 34, Estructura 35, Estructura 36, Estructura 37, donde el ligando de integrina αvβ6 es un ligando tridentado, unido a través de un andamio.

[0264] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la Estructura 2 en una forma tridentada, y puede estar representada por la siguiente estructura:



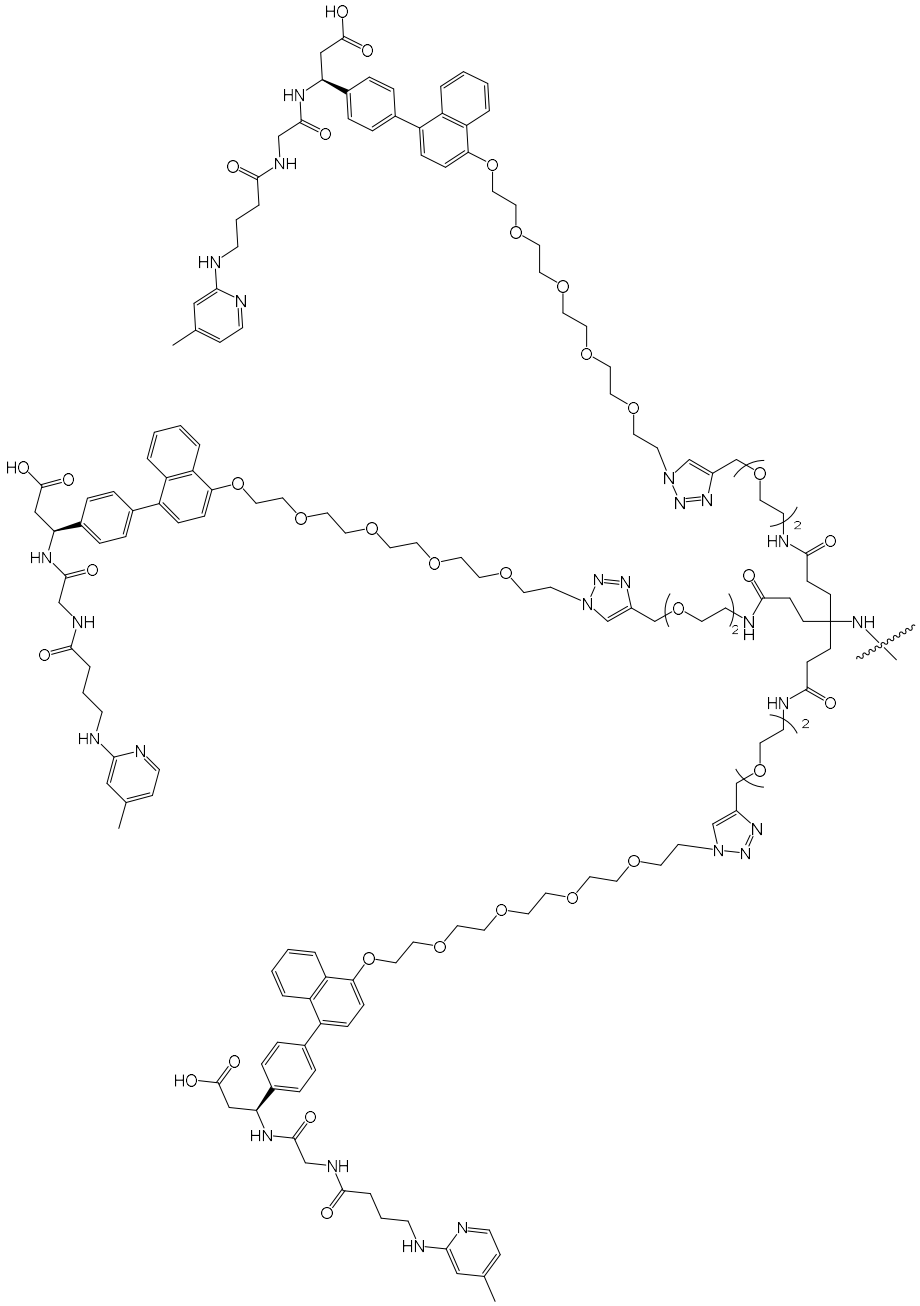
(Estructura 700)

[0265] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la Estructura 6,1 en una forma tridentada, y puede estar representada por la siguiente estructura:



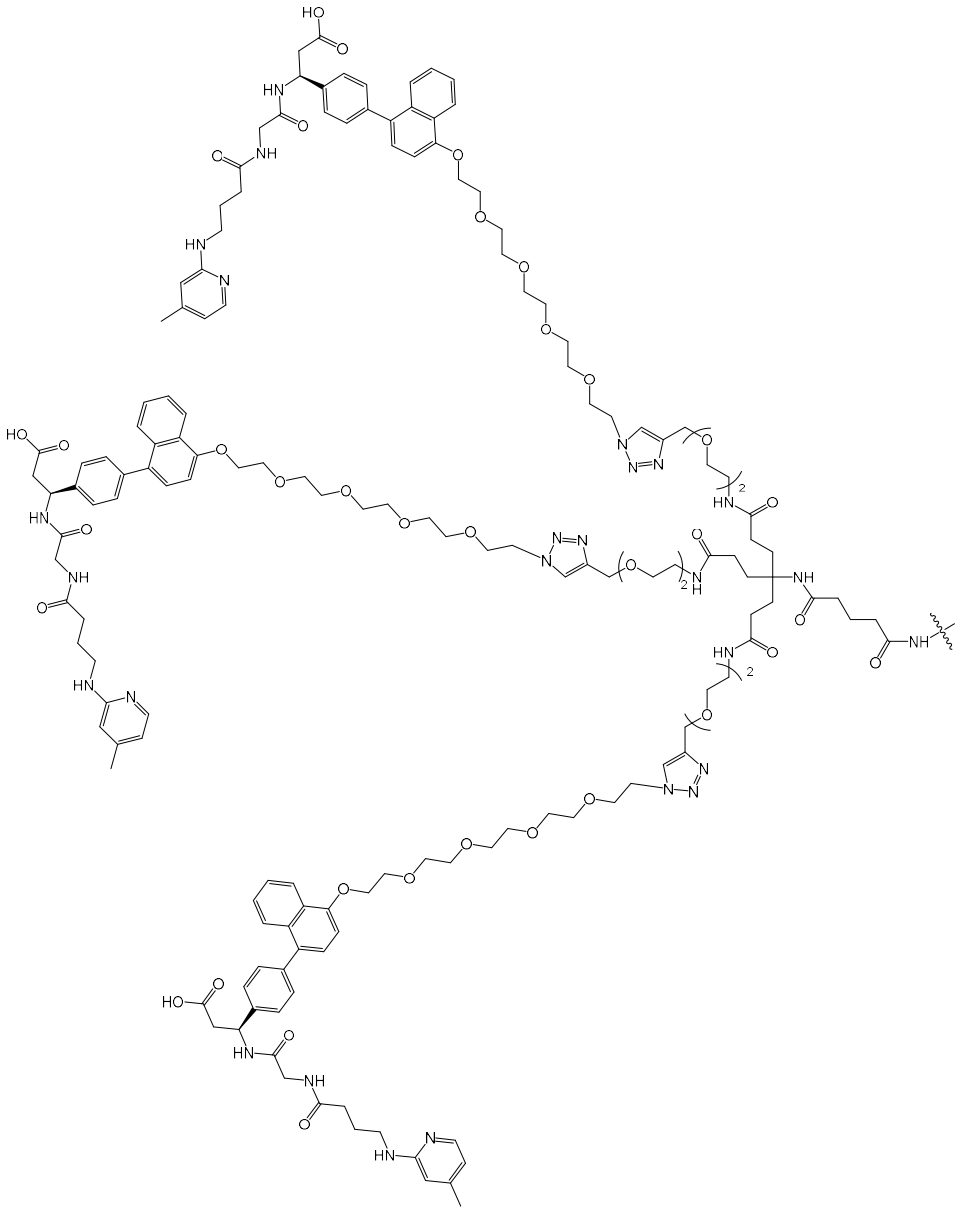
(Estructura 701)

[0266] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la Estructura 6,1 en una forma tridentada, y puede estar representada por la siguiente estructura:



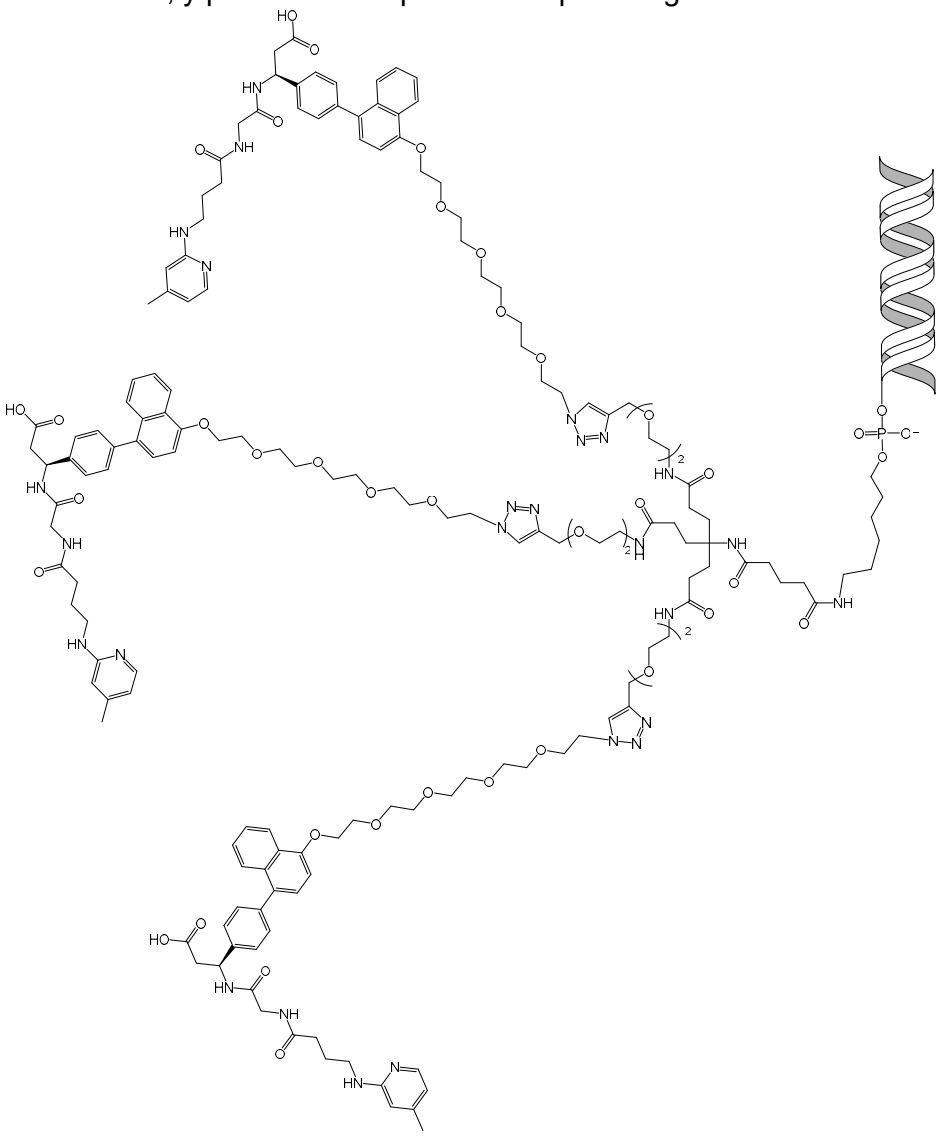
(Estructura 701a)

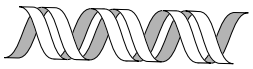
[0267] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la Estructura 6.1 en una forma tridentada que incluye un conector glutático, y puede estar representada por la siguiente estructura:



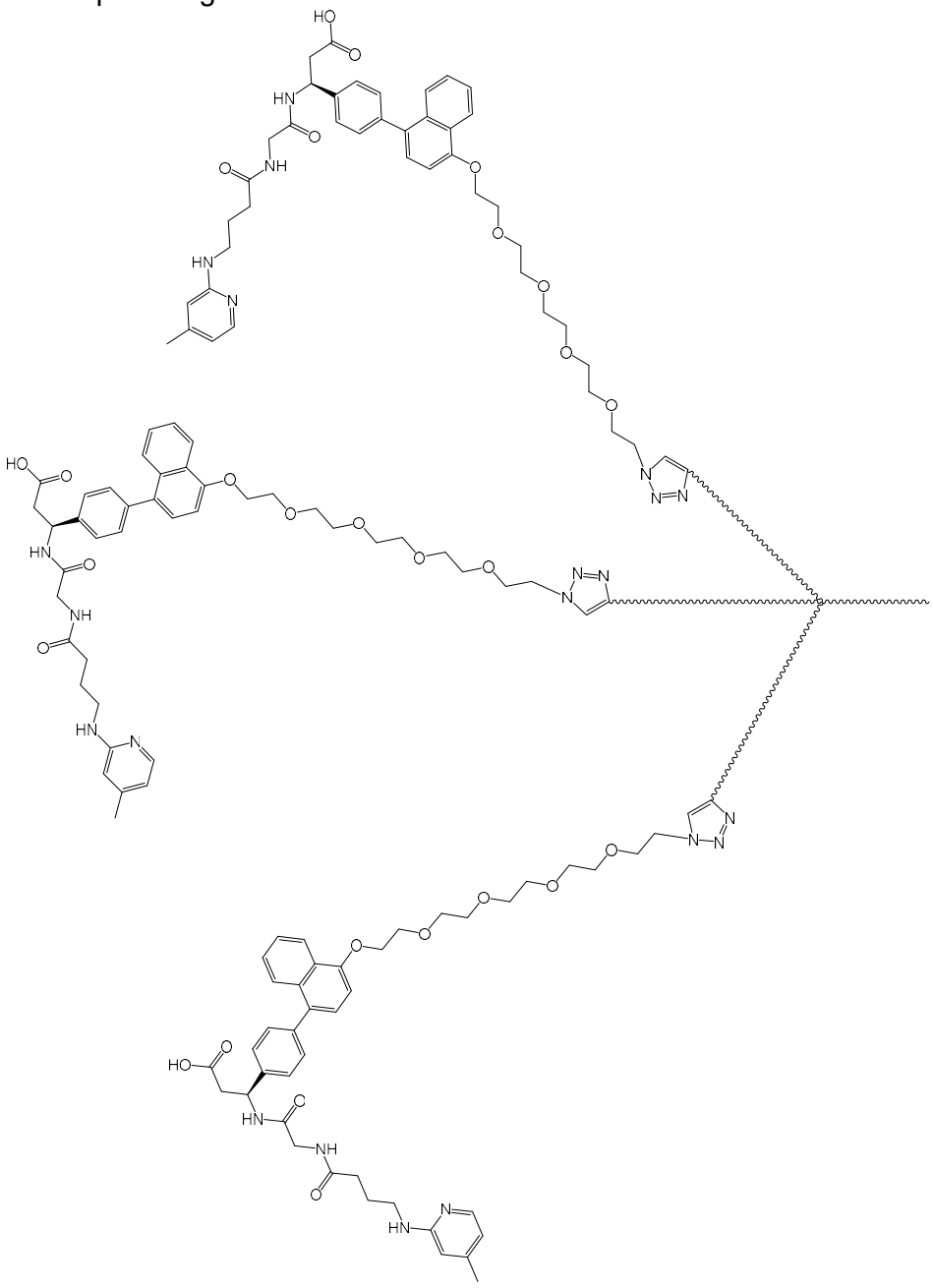
(Estructura 701b)

[0268] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la Estructura 6.1 en una forma tridentada conjugada con un agente de ARNi, y puede estar representada por la siguiente estructura:



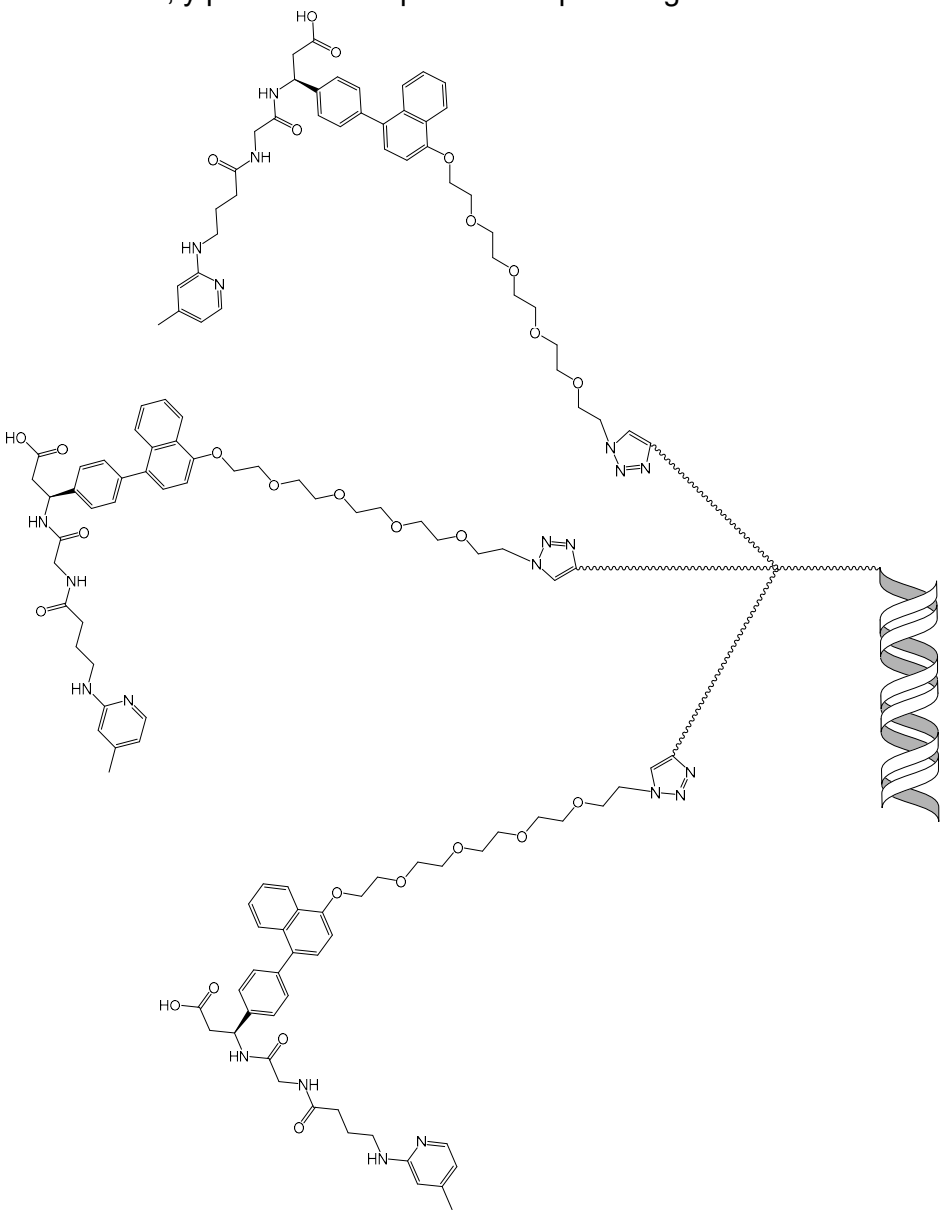
(Estructura 701c), donde  indica un agente de ARNi.

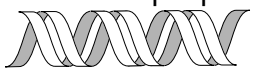
[0269] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la Estructura 6.1 en una forma tridentada, y puede estar representada por la siguiente estructura:



(Estructura 701d), donde ~~~~ indica cualquier andamio adecuado que pueda usarse para unir un ligando y una molécula de carga.

[0270] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente comprende la Estructura 6.1 en una forma tridentada conjugada con un agente de ARNi, y puede estar representada por la siguiente estructura:



(Estructura 701e), donde indica cualquier andamio adecuado que pueda usarse para unir un ligando a un agente de ARNi, y  indica un agente de ARNi.

Grupos reactivos y grupos reactivos protegidos.

[0271] Los grupos reactivos son bien conocidos en la técnica y proporcionan la formación de enlaces covalentes entre dos moléculas o reactivos. Los grupos reactivos adecuados para usar en el alcance de las invenciones en la presente incluyen, a mero título enunciativo: grupos amino, grupos amida, grupos de ácido carboxílico, azidas, alquinos, grupos propargilo, BCN(biclclo[6.1.0]nononio, DBCO(dibenzociclooctino) tioles, grupos maleimida, grupos aminooxi, N-hidroxisuccinimida (NHS) u otro éster activado (por ejemplo, PNP, TFP, PFP), grupos bromo, aldehídos, carbonatos, tosilatos, tetrazinas, transcicloocteno (TCO), hidrazidas, grupos hidroxilo, disulfuros y grupos disulfuro de ortopiridilo.

[0272] La incorporación de grupos reactivos puede facilitar la conjugación de un ligando de integrina αvβ6 descrito aquí con una molécula de carga. Las reacciones de conjugación son bien conocidas en la técnica y proporcionan la formación de enlaces covalentes entre dos moléculas o reactivos. Las reacciones de conjugación adecuadas para su uso en el alcance de las invenciones de la presente incluyen, a mero título enunciativo, reacción de acoplamiento de amida, reacción de adición de Michael, reacción de formación de hidrazona y reacción de cicloadición de química clic.

[0273] En algunas realizaciones, los ligandos dirigidos a la integrina αvβ6 descritos aquí se sintetizan como un éster de tetrafluorofenilo (TFP), que puede ser desplazado por un grupo amino reactivo para unir una molécula de carga. En algunas realizaciones, los ligandos dirigidos a la integrina descritos en la presente se sintetizan como una azida, que puede conjugarse con un grupo propargilo o DBCO, por ejemplo, mediante reacción de cicloadición de química clic, para unir una molécula de carga.

[0274] Los grupos reactivos protegidos también se usan comúnmente en la técnica. Un grupo protector proporciona la transformación química temporal de un grupo reactivo en un grupo que no reacciona en condiciones en las que reacciona el grupo no protegido, p. ej., para proporcionar quimio-selectividad en

una reacción química posterior. Los grupos reactivos protegidos adecuados para usar en el alcance de las invenciones de la presente incluyen, a mero título enunciativo, grupos BOC (t-butoxicarbonilo), grupos Fmoc (9-fluorenilmetoxicarbonilo), carboxibencilo (CBZ), ésteres de bencilo y PBF (2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofuran-5-sulfonilo).

Moléculas de carga (incluidos los agentes de ARNi)

[0275] Una molécula de carga es cualquier molécula que, cuando se separa de los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí, tendría un efecto deseable en una célula que comprende un receptor de integrina αvβ6. Una molécula de carga puede ser, a mero título enunciativo, un ingrediente farmacéutico, un medicamento, un profármaco, una sustancia con un beneficio terapéutico conocido, una molécula pequeña, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una inmunoglobulina, un anticuerpo monoclonal, una etiqueta o marcador, un lípido, un ácido nucleico o polinucleótido natural o modificado, un péptido, un polímero, una poliamina, una proteína, un aptámero, una toxina, una vitamina, un PEG, un hapteno, una digoxigenina, una biotina, un átomo o una molécula radiactivos, o un fluoróforo. En algunas realizaciones, una o más moléculas de carga (p. ej., las mismas o diferentes moléculas de carga) están unidas a uno o más ligandos de integrina αvβ6 para dirigir las moléculas de carga a una célula que expresa una integrina αvβ6.

[0276] En algunas realizaciones, una o más moléculas de carga son un ingrediente farmacéutico o una composición farmacéutica. En algunas realizaciones, una o más moléculas de carga son un compuesto basado en oligonucleótidos. Como se usa en la presente, un “compuesto basado en oligonucleótidos” es una secuencia de nucleótidos que contiene aproximadamente 10-50 (p. ej., 10 a 48, 10 a 46, 10 a 44, 10 a 42, 10 a 40, 10 a 38, 10 a 36 , 10 a 34, 10 a 32, 10 a 30, 10 a 28, 10 a 26, 10 a 24, 10 a 22, 10 a 20, 10 a 18, 10 a 16, 10 a 14, 10 a 12, 12 a 50, 12 a 48, 12 a 46, 12 a 44, 12 a

42, 12 a 40, 12 a 38, 12 a 36, 12 a 34, 12 a 32, 12 a 30, 12 a 28, 12 a 26 , 12 a 24, 12 a 22, 12 a 20, 12 a 18, 12 a 16, 12 a 14, 14 a 50, 14 a 48, 14 a 46, 14 a 44, 14 a 42, 14 a 40, 14 a 38, 14 a 36, 14 a 34, 14 a 32, 14 a 30, 14 a 28, 14 a 26, 14 a 24, 14 a 22, 14 a 20, 14 a 18, 14 a 16, 16 a 50, 16 a 48, 16 a 46, 16 a 44, 16 a 42, 16 a 40, 16 a 38, 16 a 36, 16 a 34, 16 a 32, 16 a 30, 16 a 28, 16 a 26, 16 a 24, 16 a 22, 16 a 20, 16 a 18, 18 a 50, 18 a 48, 18 a 46, 18 a 44, 18 a 42, 18 a 40, 18 a 38, 18 a 36,18 a 34, 18 a 32, 18 a 30, 18 a 28, 18 a 26, 18 a 24, 18 a 22, 18 a 20, 20 a 50, 20 a 48, 20 a 46, 20 a 44, 20 a 42, 20 a 40, 20 a 38, 20 a 36, 20 a 34, 20 a 32, 20 a 30, 20 a 28, 20 a 26, 20 a 24, 20 a 22, 22 a 50, 22 a 48, 22 a 46, 22 a 44, 22 a 42, 22 a 40, 22 a 38, 22 a 36,22 a 34, 22 a 32, 22 a 30, 22 a 28, 22 a 26, 22 a 24, 24 a 50, 24 a 48, 24 a 46, 24 a 44, 24 a 42, 24 a 40, 24 a 38, 24 a 36, 24 a 34, 24 a 32, 24 a 30, 24 a 28, 24 a 26, 26 a 50, 26 a 48, 26 a 46, 26 a 44, 26 a 42, 26 a 40, 26 a 38, 26 a 36, 26 a 34, 26 a 32, 26 a 30, 26 a 28, 28 a 50, 28 a 48, 28 a 46, 28 a 44, 28 a 42, 28 a 40, 28 a 38, 28 a 36, 28 a 34, 28 a 32, a 28 a 30, 30 a 50, 30 a 48, 30 a 46, 30 a 44, 30 a 42, 30 a 40, 30 a 38, 30 a 36, 30 a 34, 30 a 32 , 32 a 50, 32 a 48, 32 a 46, 32 a 44, 32 a 42, 32 a 40, 32 a 38, 32 a 36,32 a 34, 34 a 50, 34 a 48, 34 a 46, 34 a 44, 34 a 42, 34 a 40, 34 a 38, 34 a 36, 36 a 50, 36 a 48, 36 a 46, 36 a 44, 36 a 42, 36 a 40, 36 a 38, 38 a 50, 38 a 48, 38 a 46, 38 a 44, 38 a 42, 38 a 40, 40 a 50, 40 a 48, 40 a 46, 40 a 44, 40 a 42, 42 a 50, 42 a 48, 42 a 46, 42 a 44, 44 a 50, 44 a 48, 44 a 46, 46 a 50, 46 a 48, o 48 a 50) nucleótidos o pares de bases de nucleótidos. En algunas realizaciones, un compuesto basado en oligonucleótidos tiene una secuencia de bases nitrogenadas que es al menos parcialmente complementaria a una secuencia de codificación en un ácido nucleico o gen diana expresado dentro de una célula. En algunas realizaciones, los compuestos basados en oligonucleótidos, tras el suministro a una célula que expresa un gen, pueden inhibir la expresión del gen subyacente, y se denominan en la presente “compuestos basados en oligonucleótidos inhibidores de la expresión”. La expresión génica puede inhibirse *in vitro* o *in vivo*.

[0277] Los “compuestos basadosen oligonucleótidos” incluyen, a mero título enunciativo: oligonucleótidos monocatenarios, oligonucleótidos antisentido monocatenarios, ARN de interferencia corta (siRNA), ARN bicatenarios (dsRNA), micro ARN (miRNA), ARN de horquilla corta (shRNA), ribozimas, moléculas de ARN de interferencia y sustratos de dicer. En algunas realizaciones, un compuesto basado en oligonucleótidos es un oligonucleótido monocatenario, tal como un oligonucleótido antisentido. En algunas realizaciones, un compuesto basado en oligonucleótidos es un oligonucleótido bicatenario. En algunas realizaciones, un compuesto basado en oligonucleótidos es un oligonucleótido bicatenario que es un agente de ARNi.

[0278] En algunas realizaciones, la(s) molécula(s) de carga es/son un “agente de ARNi”, que como se define en la presente, es una composición que contiene una molécula de oligonucleótido de ARN o similar a ARN (p. ej., ARN modificado químicamente) que es capaz de degradar o inhibir la traducción de construcciones de ARN mensajero (ARNm) de un ARNm objetivo de una manera específica de la secuencia. Como se usan en la presente, los agentes de ARNi pueden operar a través del mecanismo de interferencia de ARN (es decir, induciendo interferencia de ARN a través de la interacción con la maquinaria de la vía de interferencia de ARN[complejo silenciador inducido por ARN o RISC] de células de mamífero), o mediante cualquier mecanismo o mecanismos o vía alternativos. Si bien se cree que los agentes de ARNi, como se usa ese término en la presente, operan principalmente a través del mecanismo de interferencia de ARN, los agentes de ARNi descritos no están sujetos ni limitados a ninguna vía o mecanismo de acción particular. Los agentes de ARNi descritos en la presente se componen de una cadena codificante en sentido y una cadena antisentido e incluyen, a mero título enunciativo: ARN de interferencia (siRNA) cortos (o pequeños), ARN bicatenarios (dsRNA), micro ARN (miRNA), ARN de horquilla cortos (shRNA) y sustratos de dicer. La cadena antisentido de los agentes de ARNi descritos en la presente es al menos parcialmente

complementaria al ARNm al que se dirige. Los agentes de ARNi pueden incluir uno o más nucleótidos modificados y/o uno o más enlaces no fosfodiéster.

[0279] Típicamente, los agentes de ARNi pueden estar compuestos por al menos una cadena codificante en sentido (también denominada cadena pasajera) que incluye una primera secuencia, y una cadena antisentido (también conocida como cadena guía) que incluye una segunda secuencia. La longitud de las cadenas codificantes en sentido y antisentido de un agente de ARNi puede ser de 16 a 49 nucleótidos cada una. En algunas realizaciones, las cadenas codificantes en sentido y antisentido de un agente de ARNi son independientemente de 17 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, las cadenas codificantes en sentido y antisentido son independientemente de 19 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, las cadenas codificantes en sentido y antisentido son independientemente de 21 a 26 nucleótidos de longitud. En algunas realizaciones, las cadenas codificantes en sentido y antisentido son independientemente de 21 a 24 nucleótidos de longitud. Las cadenas codificantes en sentido y antisentido pueden tener la misma longitud o longitudes diferentes. Los agentes de ARNi incluyen una secuencia de cadena antisentido que es al menos parcialmente complementaria a una secuencia en el gen diana, y tras la administración a una célula que expresa el objetivo, un agente de ARNi puede inhibir la expresión de uno o más genes diana *in vivo o in vitro*.

[0280] Los compuestos basados en oligonucleótidos en general, y los agentes de ARNi específicamente, pueden estar compuestos de nucleótidos modificados y/o uno o más enlaces no fosfodiéster. Como se usa en la presente, un “nucleótido modificado” es un nucleótido distinto de un ribonucleótido (2′-hidroxil nucleótido). En algunas realizaciones, al menos un 50% (p. ej., al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99%, o 100%) de los nucleótidos son nucleótidos modificados. Como se usan en la presente, los nucleótidos modificados incluyen,

a mero título enunciativo, desoxirribonucleótidos, análogos de nucleótidos, nucleótidos abásicos, nucleótidos modificados en 2', nucleótidos de enlaces 3' a 3 '(invertidos), nucleótidos que comprenden bases no naturales, nucleótidos con puente, péptidos nucleicos ácidos, análogos de 2', 3'-seco nucleótidos (análogos de bases nitrogenadas desbloqueados, nucleótidos bloqueados, nucleótidos 3′-O-metoxi (2' unidos a internucleósidos), 2'-F-Arabino nucleótidos, 5'-Me, 2'-fluoro nucleótido, nucleótidos de morfolino, desoxirribonucleótidos de fosfonato de vinilo, nucleótidos que contienen fosfonato de vinilo y nucleótidos que contienen fosfato de ciclopropilo. Los nucleótidos modificados en 2' (es decir, un nucleótido con un grupo distinto de un grupo hidroxilo en la posición 2' del anillo de azúcar de cinco miembros) incluyen, a mero título enunciativo, 2′-O-metil nucleótidos, 2′-deoxi-2′-fluoro nucleótidos, 2′-desoxi nucleótidos, 2′-metoxietil (2′-O-2-metoxiletil) nucleótidos, 2′-amino nucleótidos y 2′-alquil nucleótidos.

[0281] Además, uno o más nucleótidos de un compuesto basado en oligonucleótidos, tal como un agente de ARNi, pueden estar unidos por enlaces o ejes no convencionales (es decir, enlaces internucleosídicos modificados o ejes modificados). Un enlace internucleosídico modificado puede ser un enlace internucleósido covalente que no contiene fosfato. Los enlaces o ejes internucleosídicos modificados incluyen, a mero título enunciativo, grupos de 5′-fosforotioato, fosforotioatos quirales, tiofosfatos, fosforoditioatos, fosfotriésteres, aminoalquil-fosfotriésteres, alquilfosfonatos (p. ej., metilfosfonatos o fosfatos de 3′-alquileno), fosfonatos quirales, fosfinatos, fosforamidatos (p. ej., 3′-amino fosforamidato, aminoalquilfosforamidatos o tionofosforamidatos), tionoalquil-fosfonatos, tionoalquilfosfotriésteres, enlaces morfolino, boranofosfatos que tienen enlaces 3'-5′ normales, análogos unidos a 2′-5′ o boranofosfatos, o boranofosfatos que tienen polaridad invertida donde los pares adyacentes de unidades de nucleósidos están unidos 3′-5 'a 5′-3' o 2′-5 'a 5′-2'.

[0282] No es necesario que todas las posiciones en un compuesto dado sean modificadas uniformemente. Por el contrario, se puede incorporar más de

una modificación en un único compuesto basado en oligonucleótidos o incluso en un solo nucleótido de este.

[0283] En algunas realizaciones, la molécula de carga es un agente de ARNi para inhibir la expresión del gen alfa ENaC. La molécula de carga puede ser un agente de ARNi descrito en la Solicitud de Patente Internacional n.º PCT/US18/40874, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

[0284] Las cadenas codificantes en sentido y antisentido de un agente de ARNi pueden sintetizarse y/o modificarse mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la divulgación de los agentes de ARNi dirigidos a la inhibición de la expresión de alfa-ENaC se puede encontrar, por ejemplo, en la Publicación de Solicitud de Patente Internacional n.º WO 2008/152131, que se incorpora aquí como referencia en su totalidad. Se pueden encontrar divulgaciones adicionales relacionadas con los agentes de ARNi, por ejemplo, en la divulgación de modificaciones se pueden encontrar, por ejemplo, en la Solicitud de Patente Internacional n.º PCT/US2017/0455446 de Arrowhead Pharmaceuticals, Inc., que también se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

En algunas realizaciones, una o más moléculas de carga pueden incluir o consistir en una fracción de PEG que puede actuar como un modulador farmacocinético (PK). En algunas realizaciones, una o más moléculas de carga pueden incluir una fracción de PEG que tiene aproximadamente 20-900 unidades de óxido de etileno (CH_2-CH_2-O) (p. ej., 20 a 850, 20 a 800, 20 a 750, 20 a 700, 20 a 650, 20 a 600, 20 a 550, 20 a 500, 20 a 450, 20 a 400, 20 a 350, 20 a 300, 20 a 250, 20 a 200, 20 a 150, 20 a 100, 20 a 75 , 20 a 50, 100 a 850, 100 a 800, 100 a 750, 100 a 700, 100 a 650, 100 a 600, 100 a 550, 100 a 500, 100 a 450, 100 a 400, 100 a 350, 100 a 300, 100 a 250, 100 a 200, 100 a 150, 200 a 850, 200 a 800, 200 a 750, 200 a 700, 200 a 650, 200 a 600, 200 a 550, 200 a 500, 200 a 450 , 200 a 400, 200 a 350, 200 a 300, 200 a 250, 250 a 900, 250 a 850, 250 a 800, 250 a 750, 250 a 700, 250 a 650, 250 a 600, 250 a 550,

250 a 500, 250 a 450, 250 a 400, 250 a 350, 250 a 300, 300 a 900, 300 a 850, 300 a 800, 300 a 750, 300 a 700, 300 a 650, 300 a 600, 300 a 550 , 300 a 500, 300 a 450, 300 a 400, 300 a 350, 350 a 900, 350 a 850, 35 0 a 800, 350 a 750, 350 a 700, 350 a 650, 350 a 600, 350 a 550, 350 a 500, 350 a 450, 350 a 400, 400 a 900, 400 a 850, 400 a 800, 400 a 750, 400 a 700, 400 a 650, 400 a 600, 400 a 550, 400 a 500, 400 a 450, 450 a 900, 450 a 850, 450 a 800, 450 a 750, 450 a 700, 450 a 650, 450 a 600, 450 a 550, 450 a 500, 500 a 900, 500 a 850, 500 a 800, 500 a 750, 500 a 700, 500 a 650, 500 a 600, 500 a 550, 550 a 900, 550 a 850, 550 a 800, 550 a 750, 550 a 700, 550 a 650, 550 a 600, 600 a 900, 600 a 850, 600 a 800, 600 a 750, 600 a 700, 600 a 650, 650 a 900, 650 a 850, 650 a 800, 650 a 750, 650 a 700, 700 a 900, 700 a 850, 700 a 800, 700 a 750, 750 a 900, 750 a 850, 750 a 800, 800 a 900, 850 a 900, o 850 a 900 unidades de óxido de etileno). En algunas realizaciones, una o más moléculas de carga consisten en una fracción de PEG que tiene aproximadamente 455 unidades de óxido de etileno (peso molecular de aproximadamente 20 kilodalton [kDa]). En algunas realizaciones, una fracción de PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 2 kilodaltons. En algunas realizaciones, una fracción de PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 20 kilodaltons. En algunas realizaciones, una fracción de PEG tiene un peso molecular de aproximadamente 40 kilodaltons. Las fracciones de PEG descritas aquí pueden ser lineales o ramificadas. Las fracciones de PEG pueden ser discretas (monodispersadas) o no discretas (polidispersadas). Se pueden comprar comercialmente fracciones de PEG para usar como una molécula de carga que mejora la PK. En algunas realizaciones, una o más moléculas de carga incluyen una fracción de PEG que puede actuar como modulador o potenciador de la PK, así como una molécula de carga diferente, tal como un ingrediente o compuesto farmacéuticamente activo.

[0285] Los ligandos de integrina αvβ6 descritos incluyen sales o solvatos de estos. Se considera que los solvatos de un ligando de integrina αvβ6

significan aducciones de moléculas de solvente inerte sobre el ligando de integrina αvβ6 que se forman debido a su fuerza de atracción mutua. Los solvatos son, por ejemplo, mono- o dihidratos o compuestos de adición con alcoholes, tales como, por ejemplo, metanol o etanol.

[0286] Se pueden proporcionar grupos amino libres o grupos hidroxilo libres como sustituyentes de ligandos de integrina αvβ6 con los grupos protectores correspondientes.

[0287] Los ligandos de integrina αvβ6 también incluyen, p. ej., derivados, es decir, ligandos de integrina αvβ6 modificados con, por ejemplo, grupos alquilo o acilo, azúcares u oligopéptidos, que se escinden *in vitro* o en un organismo.

[0288] En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente facilita el suministro de una molécula de carga al citosol de una célula que presenta una integrina αvβ6 en su superficie, ya sea a través de endocitosis mediada por ligando, pinocitosis o por otros medios. En algunas realizaciones, un ligando de integrina αvβ6 descrito en la presente facilita el suministro de una molécula de carga a la membrana plasmática de una célula que presenta una integrina αvβ6.

Composiciones farmacéuticas

[0289] En algunas realizaciones, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que incluyen, consisten en o consisten esencialmente en uno o más de los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí.

[0290] Como se usa en la presente, una “composición farmacéutica” comprende una cantidad farmacológicamente efectiva de un ingrediente farmacéutico activo (API), y opcionalmente uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables (excipientes) son sustancias distintas del ingrediente farmacéutico activo (API, producto terapéutico) que se incluyen intencionalmente en el sistema de administración de fármacos. Los excipientes no ejercen o no tienen la intención

de ejercer un efecto terapéutico con la dosis prevista. Los excipientes pueden actuar para a) contribuir al procesamiento del sistema de administración de fármacos durante la fabricación, b) proteger, respaldar o mejorar la estabilidad, biodisponibilidad o aceptabilidad del API por parte del paciente, c) contribuir a la identificación del producto y/o d) mejorar cualquier otro atributo de la seguridad general, la eficacia o la administración del API durante el almacenamiento o uso. Un excipiente farmacéuticamente aceptable puede o no ser una sustancia inerte.

[0291] Los excipientes incluyen, a mero título enunciativo: potenciadores de la absorción, antiadherentes, agentes antiespumantes, antioxidantes, aglutinantes, agentes tamponantes, vehículos, agentes de recubrimiento, colorantes, potenciadores de la administración, polímeros de administración, dextrano, dextrosa, diluyentes, desintegrantes, emulsionantes, extendedores, rellenos, saborizantes, deslizantes, humectantes, lubricantes, aceites, polímeros, conservantes, solución salina, sales, solventes, azúcares, agentes de suspensión, matrices de liberación sostenida, edulcorantes, agentes espesantes, agentes de tonicidad, vehículos, agentes repelentes del agua y agentes humectantes.

[0292] Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden contener otros componentes adicionales que se encuentran comúnmente en las composiciones farmacéuticas. En algunas realizaciones, el componente adicional es un material farmacéuticamente activo. Los materiales farmacéuticamente activos incluyen, a mero título enunciativo: antipruríticos, astringentes, anestésicos locales o agentes antiinflamatorios (p. ej., antihistamínico, difenhidramina, etc.), fármacos de molécula pequeña, anticuerpos, fragmentos de anticuerpos, aptámeros y/o vacunas.

[0293] Las composiciones farmacéuticas también pueden contener agentes conservantes, agentes solubilizantes, agentes estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, odorantes, sales para la variación de la presión osmótica, tampones, agentes de recubrimiento o

antioxidantes. También pueden contener otro agente con un beneficio terapéutico conocido.

[0294] Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar de varias maneras dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y del área a tratar. La administración se puede realizar por cualquier medio comúnmente conocido en la técnica, tal como, a mero título enunciativo, tópico (p. ej., por un parche transdérmico), pulmonar (p. ej., por inhalación o insuflación de polvos o aerosoles, que incluye por nebulizador, intratraqueal, intranasal), epidérmico, transdérmico, oral o parenteral. La administración parenteral incluye, a mero título enunciativo, inyección o infusión intravenosa, intraarterial, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular; administración subdérmica (p. ej., a través de un dispositivo implantado), intracraneal, intraparenquimatosa, intratecal e intraventricular. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente se administran por inyección subcutánea. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, grageas, cápsulas de gelatina dura o blanda, soluciones, emulsiones o suspensiones. La administración también se puede realizar por vía rectal, por ejemplo, utilizando supositorios; local o percutánea, por ejemplo, usando pomadas, cremas, geles o soluciones; o parenteral, por ejemplo, usando soluciones inyectables.

[0295] Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración inyectable incluyen soluciones acuosas estériles (en los casos en que son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. Para la administración intravenosa, los portadores adecuados incluyen solución salina fisiológica, agua bacteriostática, Cremophor ELTM (BASF, Parsippany, NJ) o solución salina tamponada con fosfato. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe protegerse de la acción contaminante de microorganismos como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o

medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), y mezclas adecuadas de estos. Se puede mantener el nivel de fluidez adecuado a través de, por ejemplo, el uso de un recubrimiento, tal como la lecitina, a través del mantenimiento del tamaño de partícula deseado en el caso de las dispersiones y con el uso de surfactantes. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol y cloruro de sodio en la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

[0296] Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en un solvente apropiado con una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtro. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes que se requieran de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen secado al vacío y liofilización que produce un polvo del ingrediente activo más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente filtrada en un medio estéril de este.

[0297] Las formulaciones adecuadas para administración intraarticular pueden tener forma de preparación acuosa estéril de cualquiera de los ligandos descritos en la presente que puede tener forma microcristalina, por ejemplo, forma de suspensión microcristalina acuosa. Las formulaciones liposomales o los sistemas de polímeros biodegradables también se pueden usar para presentar cualquiera de los ligandos descritos en la presente tanto para administración intraarticular como oftálmica.

[0298] Los compuestos activos se pueden preparar con vehículos que protegerán el compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, como una formulación de liberación controlada, que incluye implantes y sistemas de administración microencapsulados. Se pueden usar polímeros biodegradables y biocompatibles, tales como acetato de etileno y vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones serán evidentes para los expertos en la técnica. Las suspensiones liposomales también se pueden usar como portadores farmacéuticamente aceptables. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, como se describe en la Patente de los Estados Unidos N.º 4.522.811.

[0299] Una composición farmacéutica puede contener otros componentes adicionales que se encuentran comúnmente en las composiciones farmacéuticas. Dichos componentes adicionales incluyen, a mero título enunciativo: antipruríticos, astringentes, anestésicos locales o agentes antiinflamatorios (p. ej., antihistamínico, difenhidramina, etc.). Como se usan en la presente, “cantidad farmacológicamente efectiva”, “cantidad terapéuticamente efectiva” o simplemente “cantidad efectiva” se refieren a esa cantidad de un agente farmacéuticamente activo necesaria para producir un resultado farmacológico, terapéutico o preventivo.

[0300] Los medicamentos que contienen un ligando de integrina αvβ6 también son un objeto de la presente invención, al igual que los procesos para la fabricación de dichos medicamentos, que comprenden convertir uno o más compuestos que contienen un ligando de integrina αvβ6 y, si se desea, una o más sustancias con un beneficio terapéutico conocido, en una forma farmacéuticamente aceptable.

[0301] Los ligandos de integrina αvβ6 descritos y las composiciones farmacéuticas que comprenden ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente pueden empaquetarse o incluirse en un kit, envase, paquete o

dispensador. Los ligandos de integrina αvβ6 y las composiciones farmacéuticas que comprenden los ligandos de integrina αvβ6 pueden envasarse en jeringas o viales precargados.

Células, tejidos y organismos no humanos

[0302] Se contemplan células, tejidos y organismos no humanos que incluyen al menos uno de los ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí. La célula, tejido u organismo no humano se produce mediante la administración del ligando de integrina αvβ6 a la célula, tejido u organismo no humano por cualquier medio disponible en la técnica. En algunas realizaciones, la célula es una célula de mamífero, que incluye, a mero título enunciativo, una célula humana.

Grupos de direccionamiento, grupos de enlace, moduladores farmacocinéticos (PK) y vehículos de administración

[0303] En algunas realizaciones, un ligando de αvβ6 se conjuga con uno o más grupos no nucleótidos que incluyen, a mero título enunciativo, un grupo de enlace, un modulador farmacocinético (PK), un polímero de administración o un vehículo de administración. El grupo no nucleótido puede mejorar el direccionamiento, la administración o unión de la molécula de carga. En la Tabla 6 se proporcionan ejemplos de grupos de direccionamiento y grupos de enlace. El grupo no nucleótido puede estar unido covalentemente al extremo 3′ y/o 5′ de la cadena codificante en sentido y/o la cadena antisentido. En realizaciones en las que la molécula de carga es un agente de ARNi, el agente de ARNi contiene un grupo no nucleótido unido al extremo 3′ y/o 5′ de la cadena codificante en sentido. En algunas realizaciones, un grupo no nucleótido está unido al extremo 5′ de la cadena codificante en sentido de un agente de ARNi. Un ligando de αvβ6 se puede unir directa o indirectamente a la molécula de carga a través de un

conector/grupo de enlace. En algunas realizaciones, un ligando de αvβ6 está unido a la molécula de carga a través de un enlace o conector lábil, escindible o reversible.

[0304] En algunas realizaciones, un grupo no nucleótido mejora las propiedades farmacocinéticas o de biodistribución de un agente o conjugado de ARNi al que está unido para mejorar la distribución específica de células o tejidos y la absorción específica de células del conjugado. En algunas realizaciones, un grupo no nucleótido mejora la endocitosis del agente de ARNi.

[0305] Los grupos de direccionamiento o las fracciones de direccionamiento mejoran las propiedades farmacocinéticas o de biodistribución de una molécula de carga a la que están unidas para mejorar la distribución específica de la célula (incluida, en algunos casos, específica del órgano) y la absorción de la molécula de carga específica de la célula (o específica del órgano). En algunas realizaciones, un grupo de direccionamiento puede comprender un ligando de αvβ6 como se describe en la presente. En algunas realizaciones, un grupo de direccionamiento comprende un conector. En algunas realizaciones, un grupo de direccionamiento comprende un modulador PK. En algunas realizaciones, un ligando de αvβ6 se une a una molécula de carga mediante un conector, tal como un conector de PEG o uno, dos, o tres residuos abásicos y/o ribitol (ribosa abásica), que en algunos casos pueden servir como conectores.

[0306] Las moléculas de carga se pueden sintetizar con un grupo reactivo, tal como un grupo amino (también denominado en la presente amina). En realizaciones en las que la molécula de carga es un agente de ARNi, el grupo reactivo puede estar unido en el extremo 5' y/o el extremo 3’ terminal. El grupo reactivo puede usarse posteriormente para unir un ligando de αvβ6 usando métodos típicos en la técnica.

[0307] Por ejemplo, en algunas realizaciones, se sintetiza un agente de ARNi que tiene un grupo de NH_2-C_6 en el extremo 5’ terminal de la cadena

codificante en sentido del agente de ARNi. El grupo amino terminal se puede hacer reaccionar posteriormente para formar un conjugado con, por ejemplo, un grupo que incluye un ligando dirigido a la integrina αvβ6. En algunas realizaciones, se sintetiza un agente de ARNi que tiene uno o más grupos alquinos en el extremo 5' terminal de la cadena codificante en sentido del agente de ARNi. El o los grupos alquino terminales se pueden hacer reaccionar posteriormente para formar un conjugado con, por ejemplo, un grupo que incluye un ligando dirigido a la integrina αvβ6.

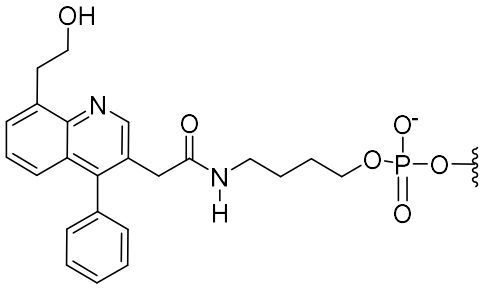
[0308] En algunas realizaciones, un grupo de enlace se conjuga con el ligando de αvβ6. El grupo de enlace facilita el enlace covalente del ligando de αvβ6 a una molécula de carga, modulador farmacocinético, polímero de administración o vehículo de administración. Los ejemplos de grupos de enlace incluyen, a mero título enunciativo: Alk-SMPT-C6, Alk-SS-C6, DBCO-TEG, Me-Alk-SS-C6 y C6-SS-Alk-Me, grupos reactivos tales como aminas primarias y alquinos, grupos alquilo, residuos/nucleótidos abásicos. aminoácidos, grupos funcionalizados con tri-alquino, grupos ribitol y/o PEG.

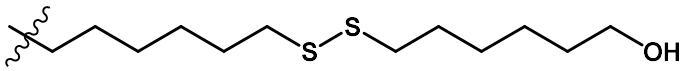
[0309] Un conector o grupo de enlace es una conexión entre dos átomos que une un grupo químico (tal como un agente de ARNi) o un segmento de interés a otro grupo químico (como un ligando de αvβ6, un modulador farmacocinético o un polímero de administración) o un segmento de interés a través de uno o más enlaces covalentes. Un conector lábil contiene un enlace lábil. Un conector puede incluir opcionalmente un espaciador que aumenta la distancia entre los dos átomos unidos. Un espaciador puede agregar más flexibilidad y/o longitud al enlace. Los espaciadores incluyen, a mero título enunciativo, grupos alquilo, grupos alquenilo, grupos alquinilo, grupos arilo, grupos aralquilo, grupos aralquenilo y grupos aralquinilo; cada uno de los cuales puede contener uno o más heteroátomos, heterociclos, aminoácidos, nucleótidos y sacáridos. Los grupos espaciadores son bien conocidos en la técnica y la lista anterior no pretende limitar el alcance de la descripción.

[0310] En algunas realizaciones, los ligandos de αvβ6 están unidos a moléculas de carga sin el uso de un conector adicional. En algunas realizaciones, el ligando de αvβ6 está diseñado con un conector fácilmente presente para facilitar el enlace a una molécula de carga. En algunas realizaciones, cuando se incluyen dos o más agentes de ARNi en una composición, los dos o más agentes de ARNi pueden unirse a sus respectivos grupos de direccionamiento utilizando los mismos conectores. En algunas realizaciones, cuando se incluyen dos o más agentes de ARNi en una composición, los dos o más agentes de ARNi se unen a sus respectivos grupos de direccionamiento utilizando diferentes conectores.

[0311] En la Tabla A se proporcionan ejemplos de ciertos grupos de enlace.

Tabla A. Estructuras que representan varios grupos de enlace

<table>
<tr><td> 

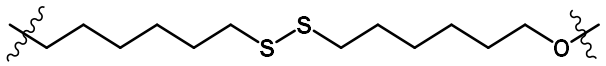
(PAZ)</td></tr>
<tr><td>Cuando se coloca en el extremo terminal 3’ del oligonucleótido:
 

(C6-SS-C6)</td></tr>
</table>

Cuando se coloca internamente en oligonucleótido:

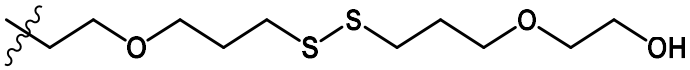
Unión hacia el extremo 5' del oligonucleótido

Unión hacia el extremo 3' del oligonucleótido



(C6-SS-C6)

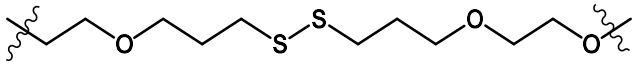
Cuando se coloca en el extremo terminal 3’ del oligonucleótido:



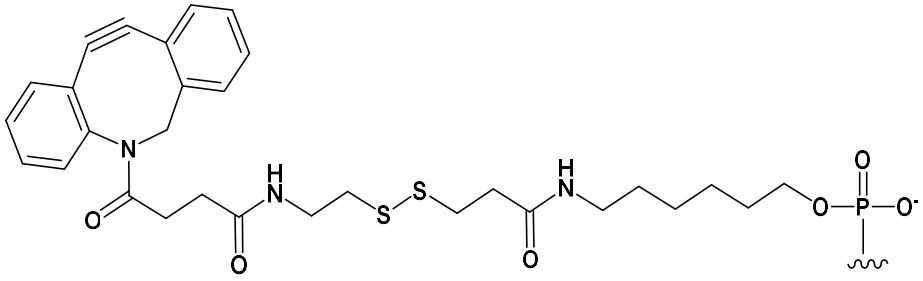
Cuando se coloca internamente en oligonucleótido:

Unión hacia el extremo 5' del oligonucleótido

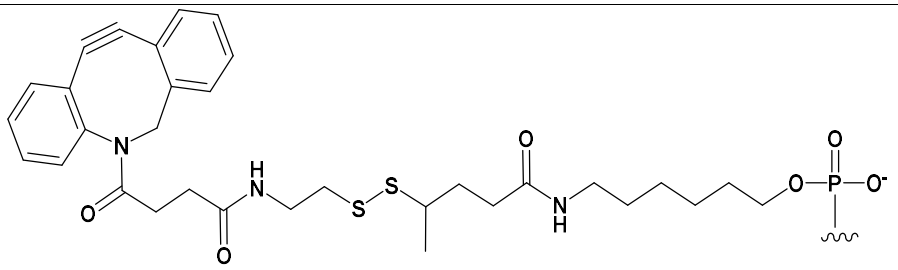
Unión hacia el extremo 3' del oligonucleótido



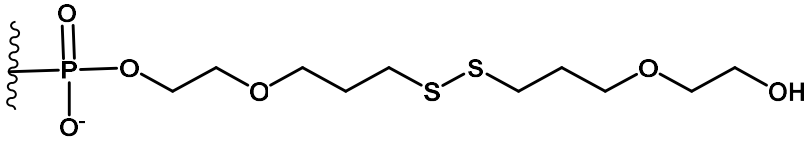
(6-SS-6)



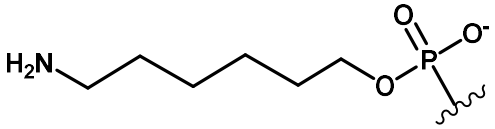
(C6-SS-Alk) o (Alk-SS-C6)



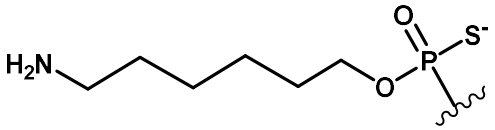
(C6-SS-Alk-Me)



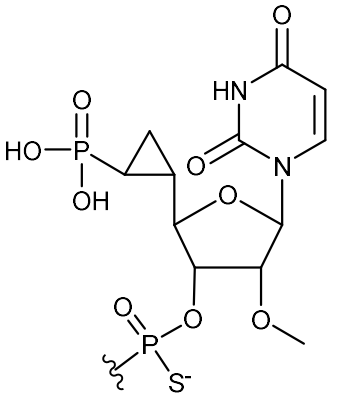
(PEG-C3-SS)



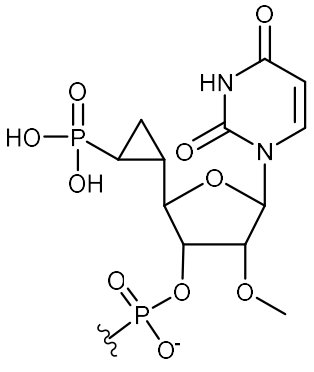
(NH_2-C_6)



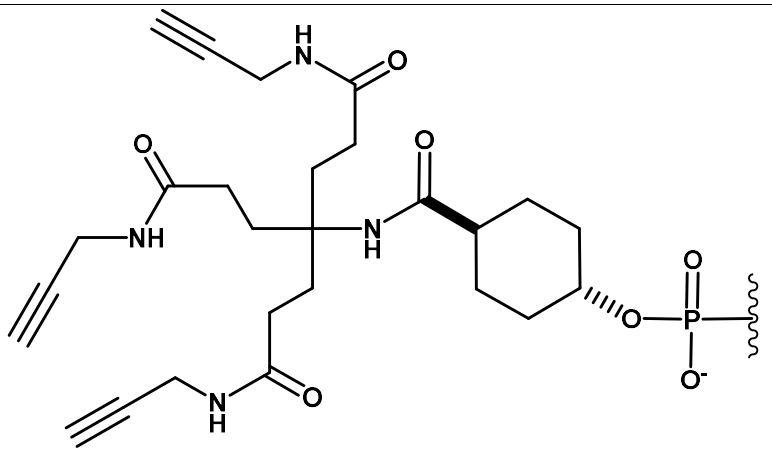
(NH_2-C_6)s



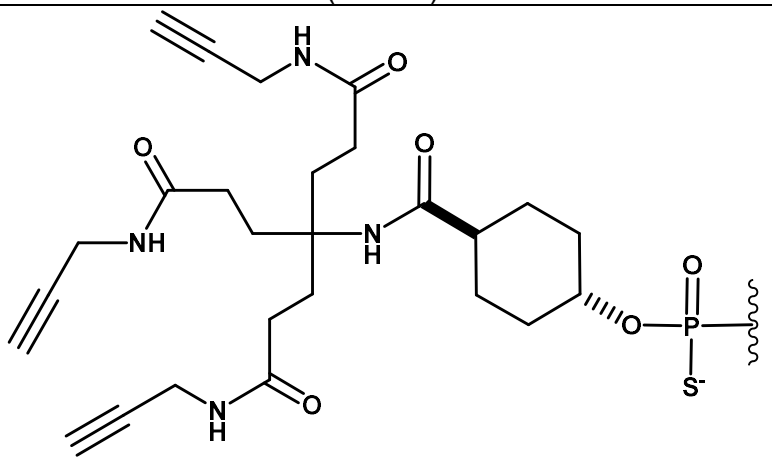
cPrpus



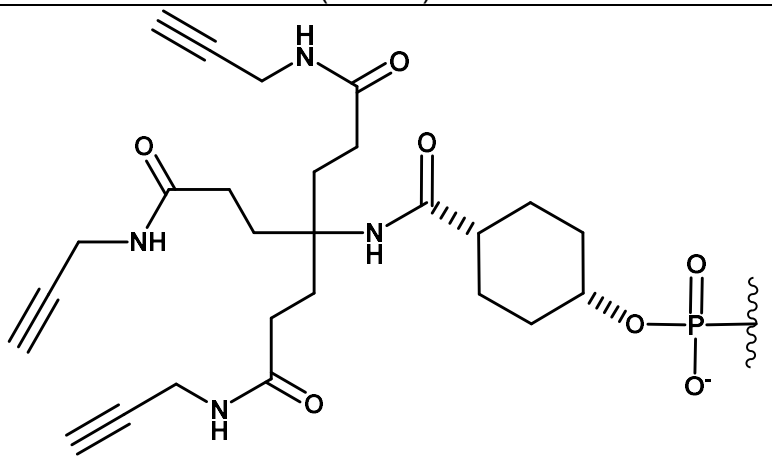
cPrpu



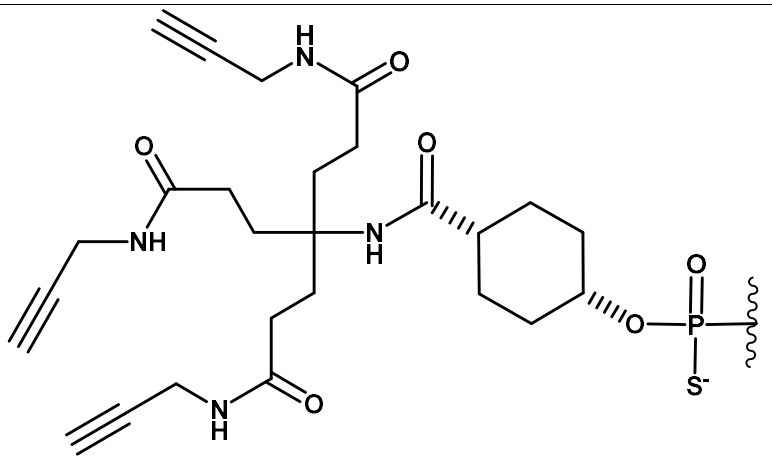
(TriAlk1)



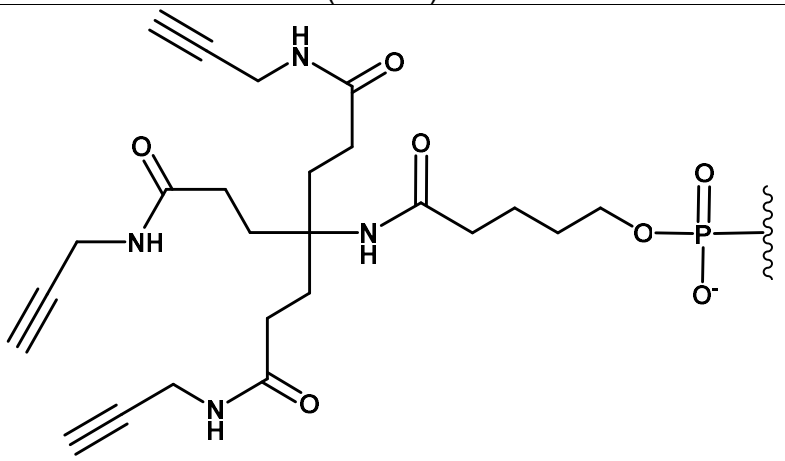
(TriAlk1)s



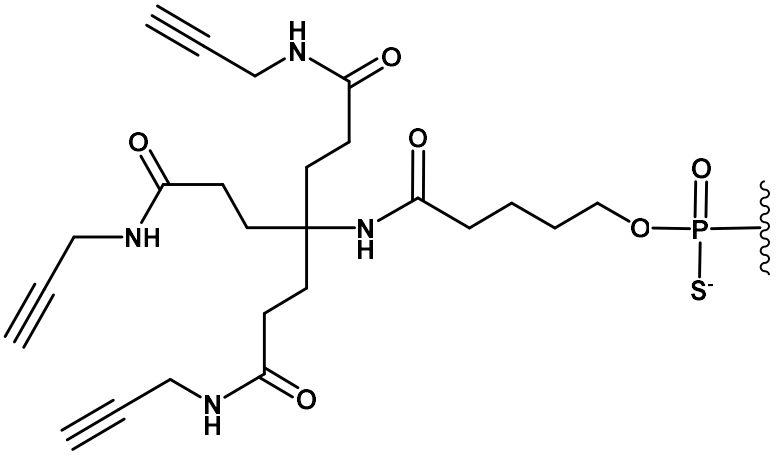
(TriAlk2)



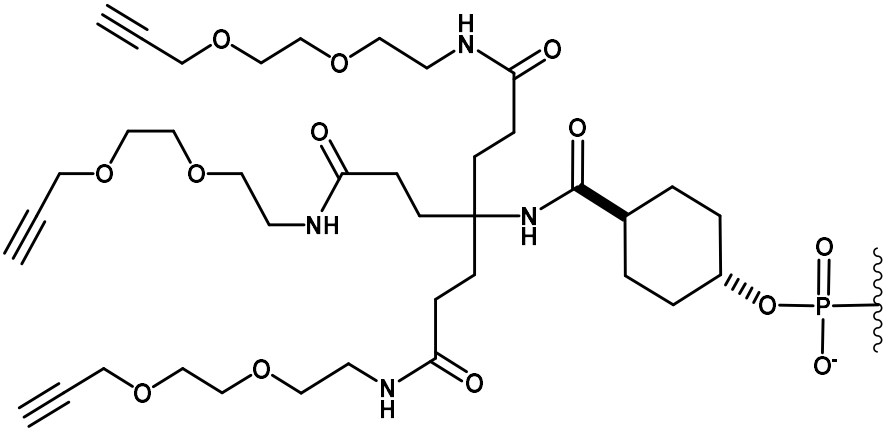
(TriAlk2)s



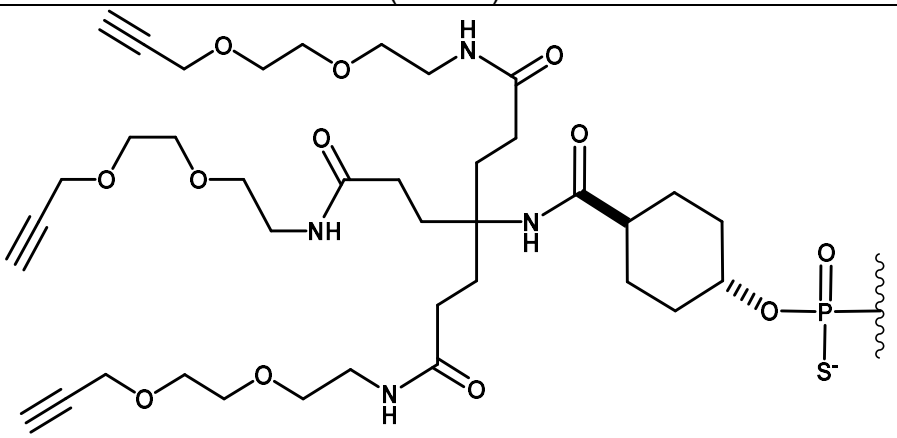
(TriAlk3)



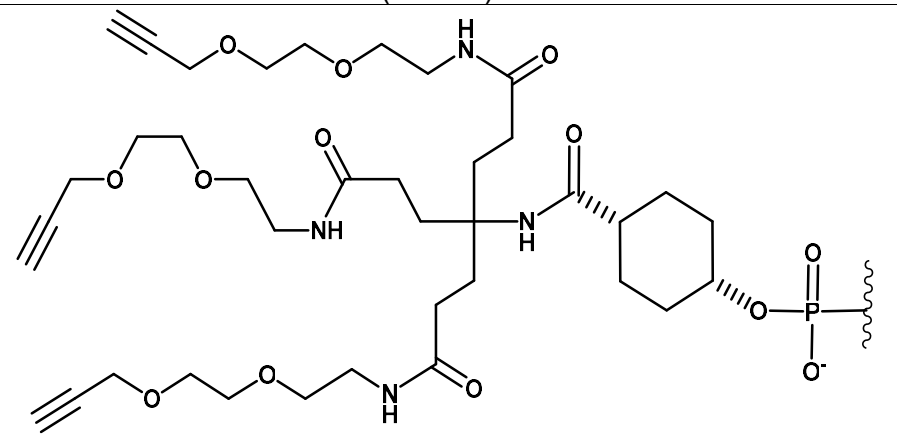
(TriAlk3)s



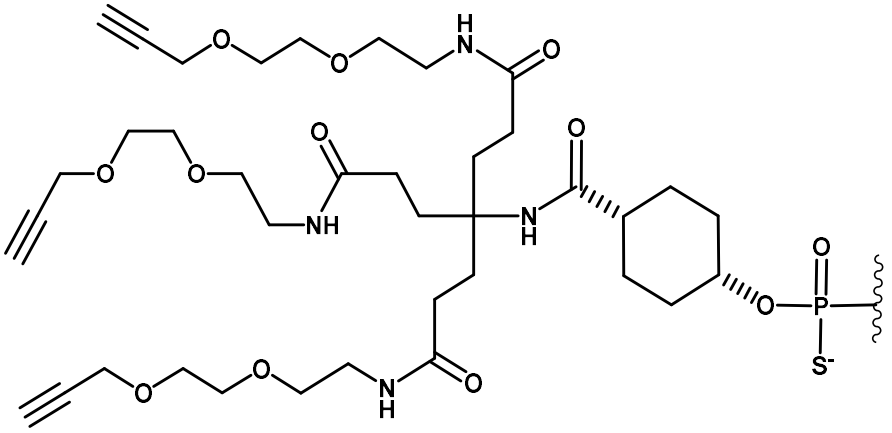
(TriAlk4)



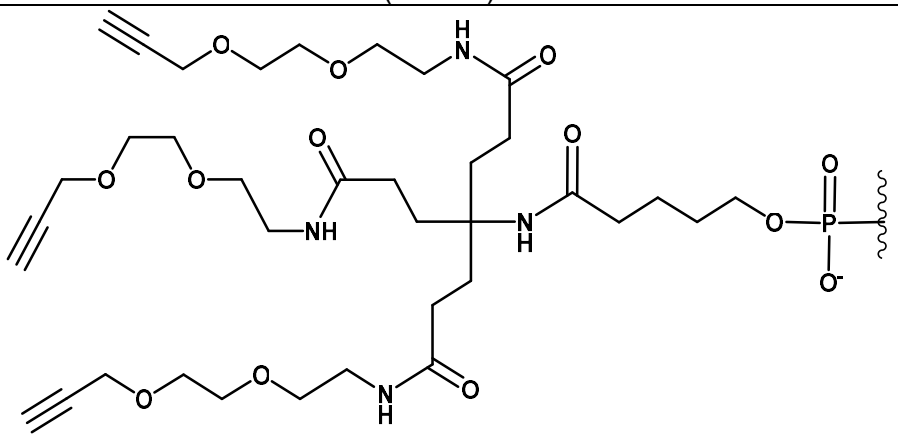
(TriAlk4)s



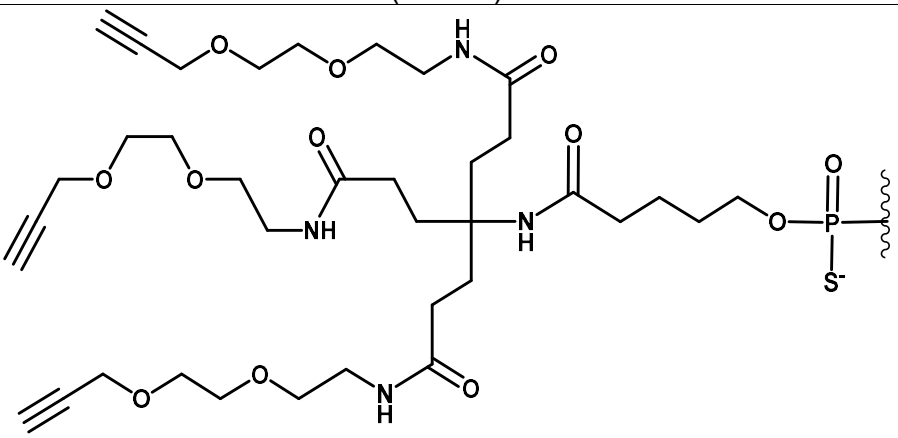
(TriAlk5)



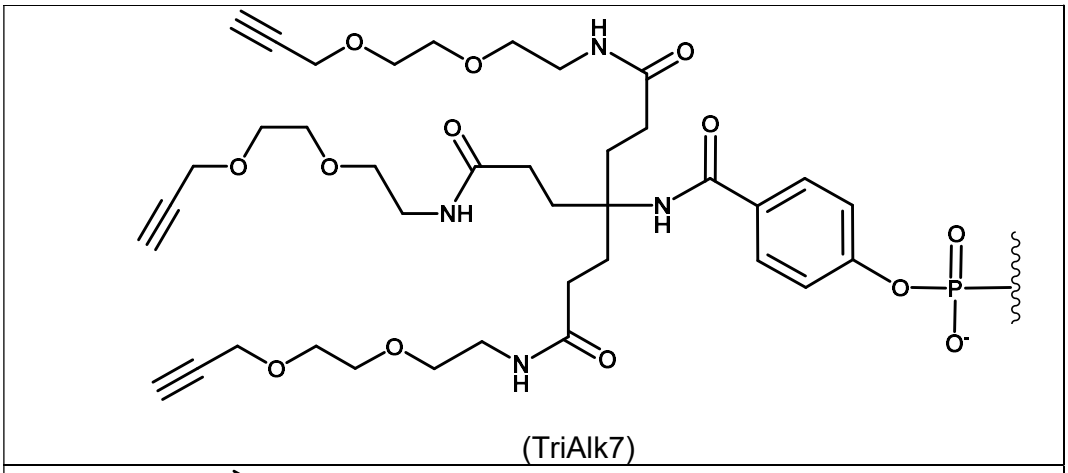
(TriAlk5)s



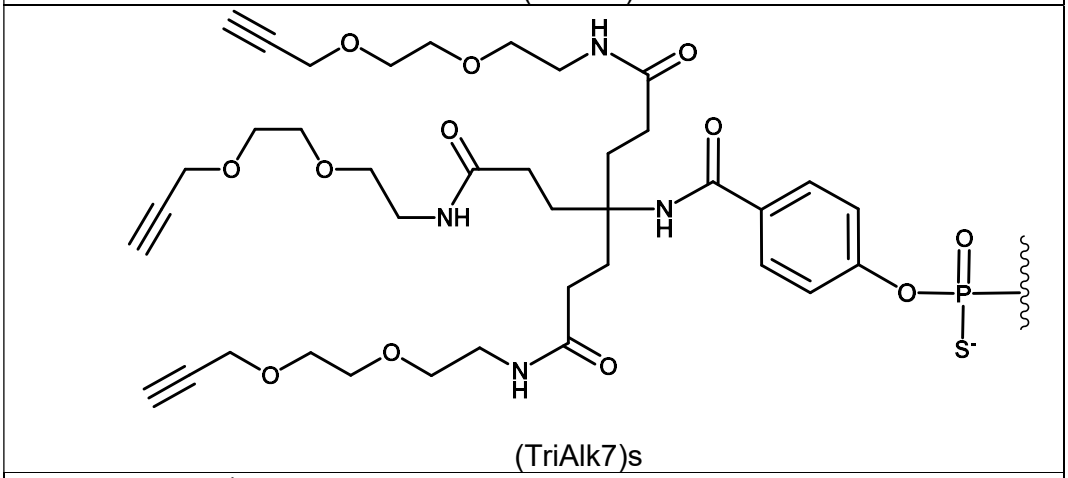
(TriAlk6)



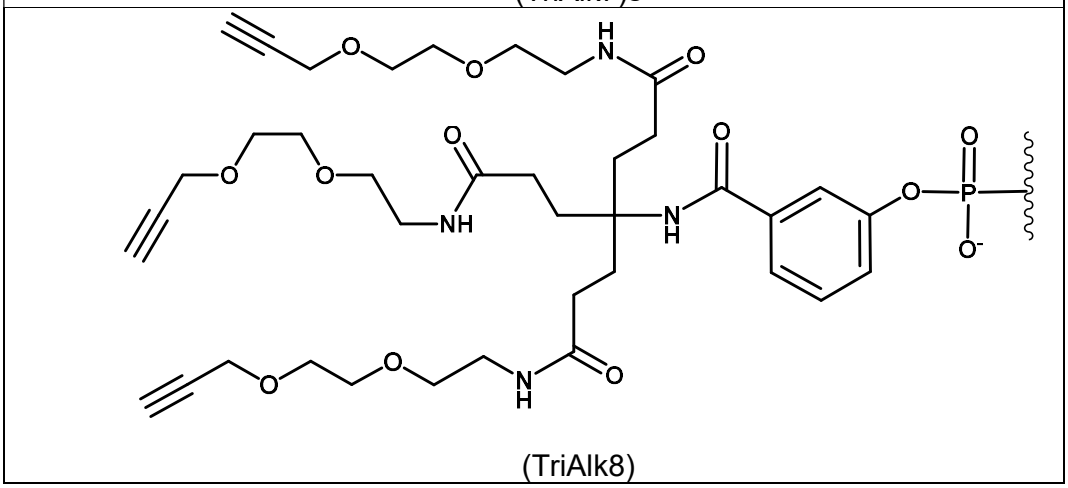
(TriAlk6)s



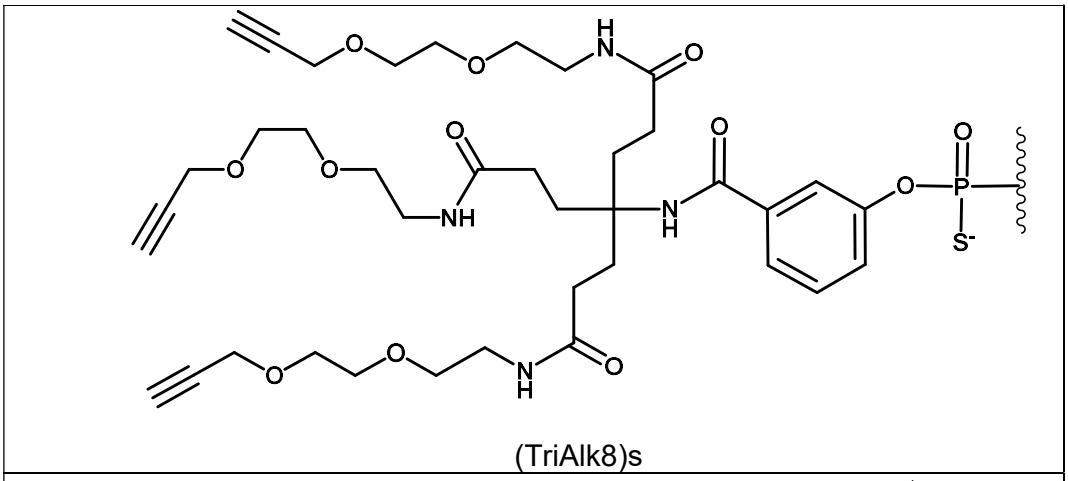
(TriAlk7)



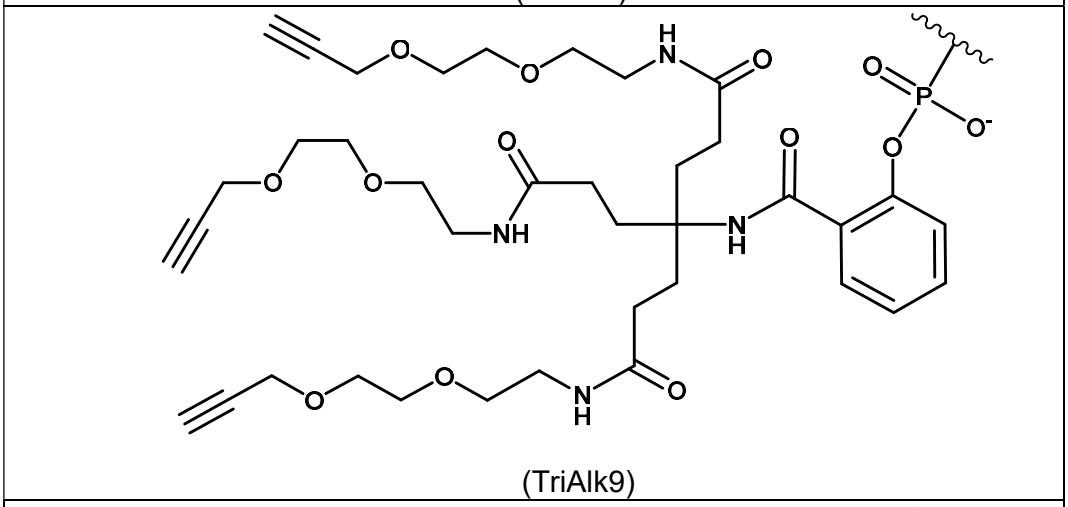
(TriAlk7)s



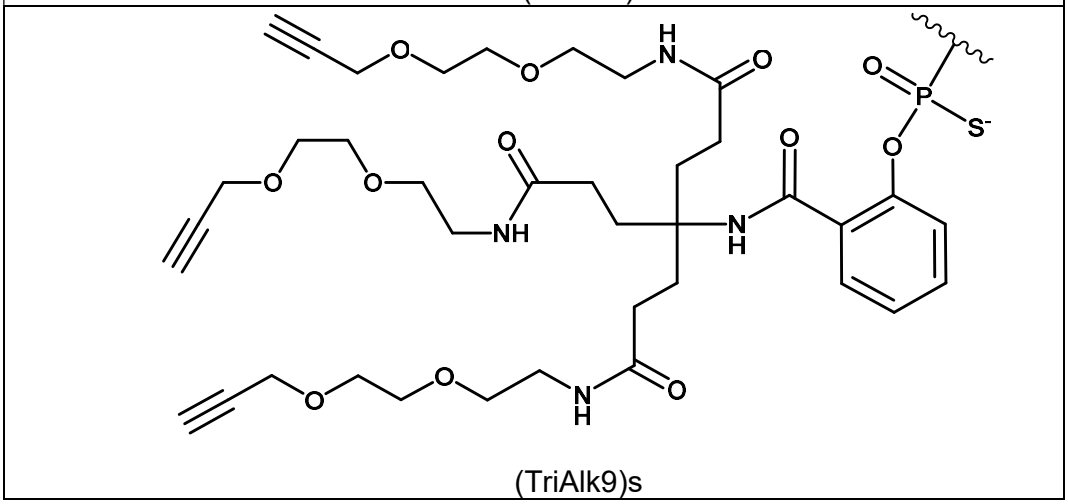
(TriAlk8)



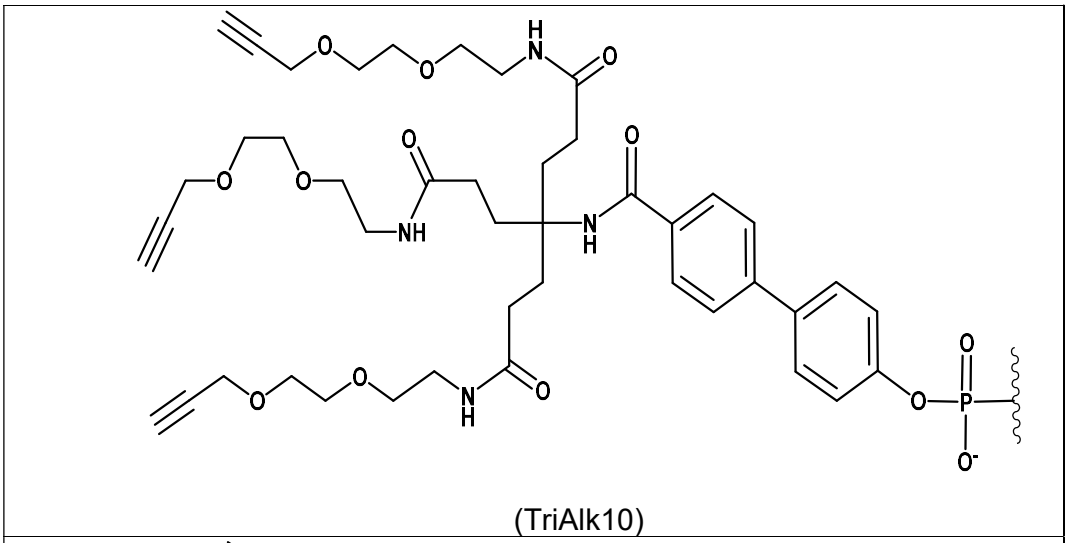
(TriAlk8)s



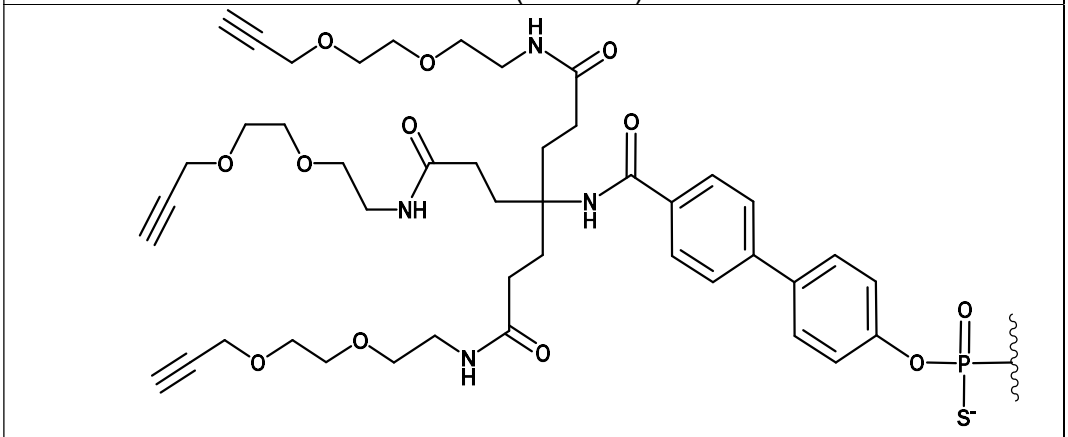
(TriAlk9)



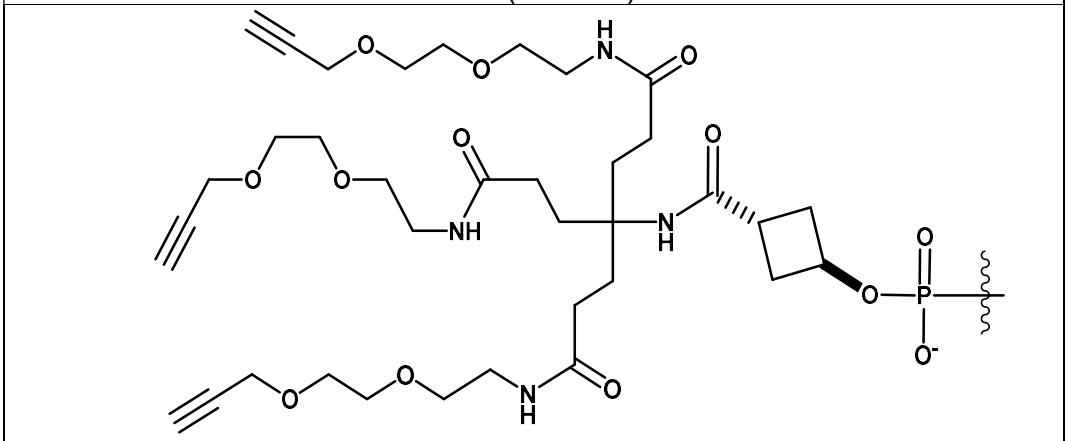
(TriAlk9)s



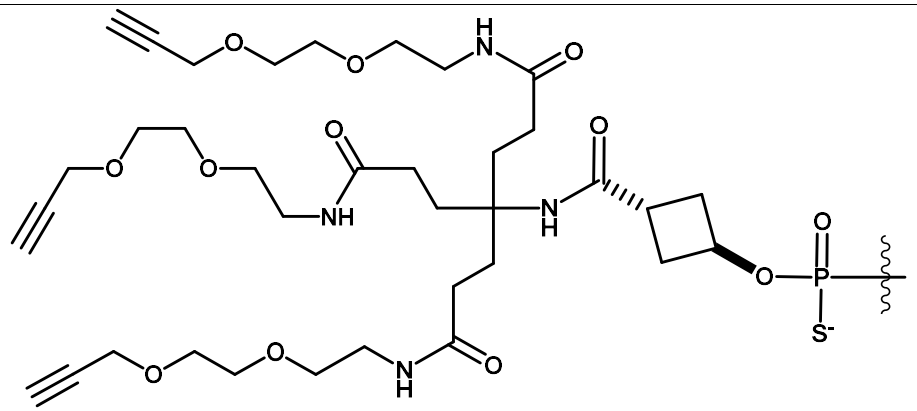
(TriAlk10)



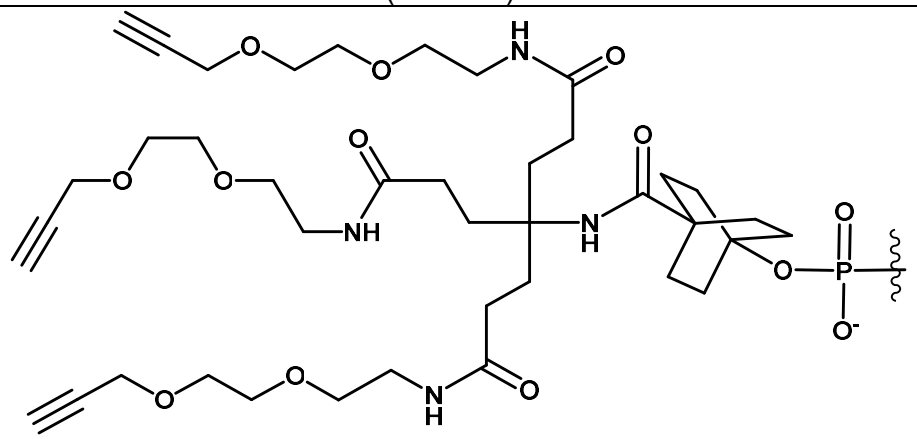
(TriAlk10)s



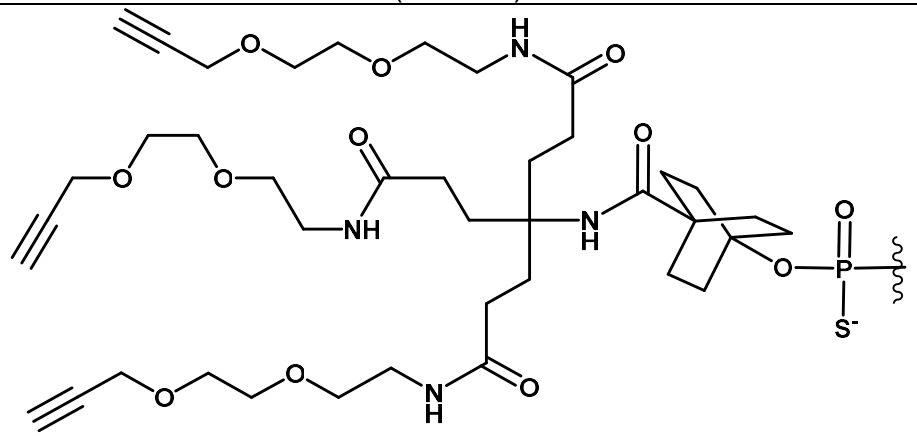
(TriAlk11)



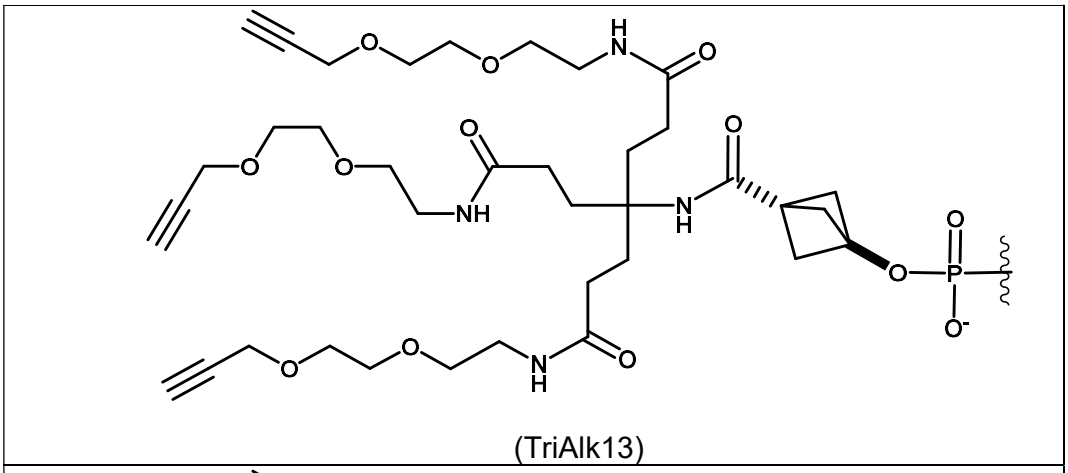
(TriAlk11)s



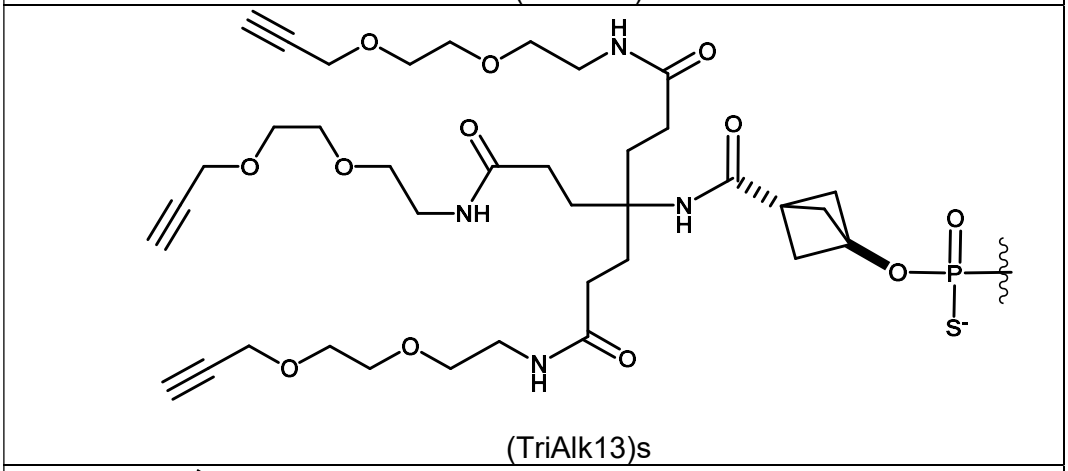
(TriAlk12)



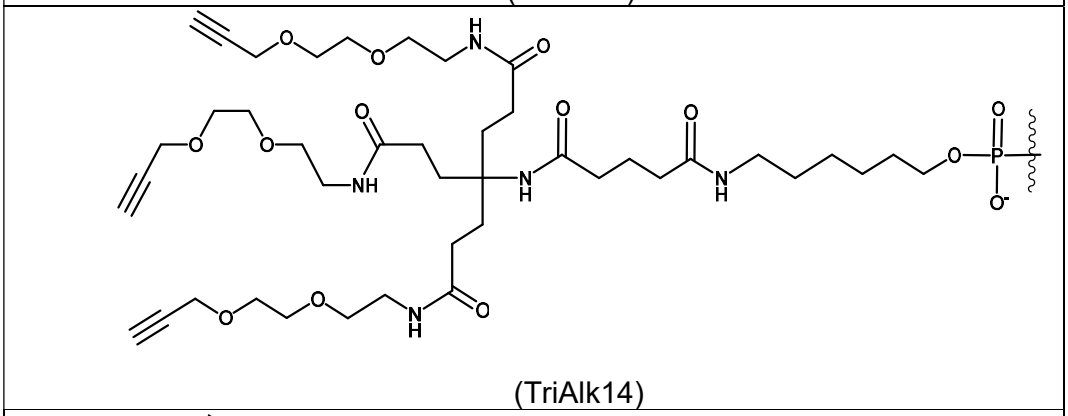
(TriAlk12)s



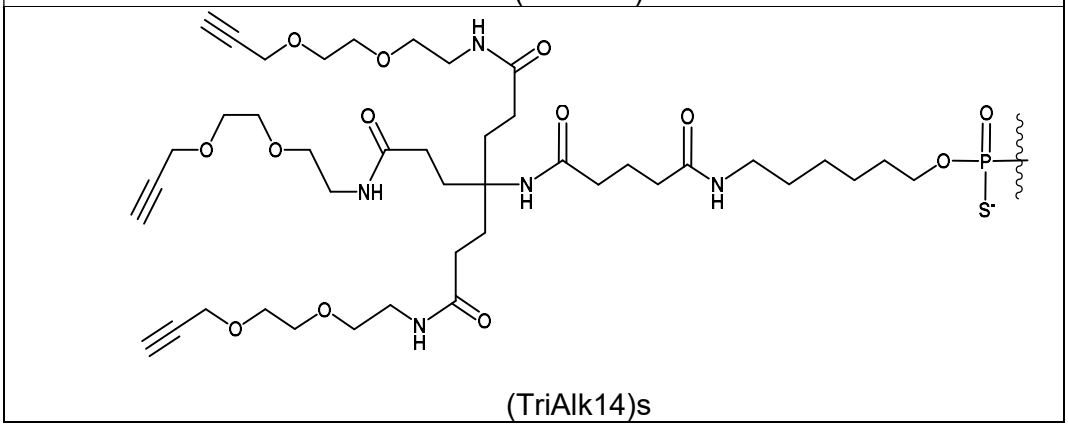
(TriAlk13)



(TriAlk13)s



(TriAlk14)



(TriAlk14)s

donde ⧘ indica el punto de unión a una molécula de carga.

[0312] Alternativamente, se pueden usar otros grupos de enlace conocidos en la técnica.

[0313] Las realizaciones y los elementos proporcionados anteriormente se ilustran ahora con los siguientes ejemplos no limitantes.

EJEMPLOS

[0314] Los siguientes ejemplos no son limitantes y pretenden ilustrar determinadas realizaciones descritas en la presente.

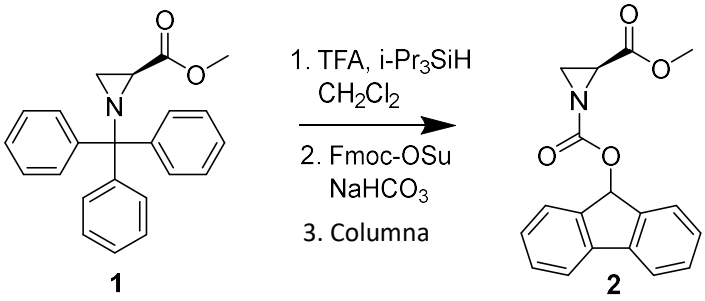
Ejemplo 1. Síntesis de ligandos de integrina αvβ6

[0315] Algunas de las abreviaturas utilizadas en los siguientes detalles experimentales de la síntesis de los ejemplos se definen de la siguiente manera: h o hr=hora(s); min=minuto(s); mol=mol(es); mmol=millimol(es); M=molar; □M=micromolar; g=gramo(s); □g=microgramo(s); ta o TA=temperatura ambiente; L=litro(s); mL=mililitro(s); wt=peso; Et_2O=éter dietílico; THF=tetrahidrofurano; DMSO=dimetilsulfóxido; EtOAc=acetato de etilo; Et_3N o TEA=trietilamina; *i*–Pr_2NEt o DIPEA o DIEA=diisopropiletilamina; CH_2Cl_2 o DCM=cloruro de metileno; $CHCl_3$=cloroformo; $CDCl_3$=cloroformo deuterado; CCl_4=tetracloruro de carbono; MeOH=metanol; EtOH=etanol; DMF=dimetilformamida; BOC=*t*–butoxicarbonil; CBZ=benciloxicarbonil; TBS=*t*–butildimetilsililo; TBSCl o TBDMSCl=cloruro de *t*–butildimetilsililo; TFA=ácido trifluoroacético; DMAP=4–dimetilaminopiridina; NaN_3=azida de sodio; Na_2SO_4=sulfato de sodio; $NaHCO_3$=bicarbonato de sodio; NaOH=hidróxido de sodio; $MgSO_4$=sulfato de magnesio; K_2CO_3=carbonato de potasio; KOH=hidróxido de potasio; NH_4OH=hidróxido de amonio; NH_4Cl=cloruro de amonio; SiO_2=sílice; Pd–C=paladio sobre carbono; HCl=cloruro de hidrógeno o ácido clorhídrico; NMM=*N*-metilmorfolina; H_2=gas de hidrógeno; KF=fluoruro de

potasio; EDC-HCl=N-(3-dimetilaminopropil)-N′-etilcarbodiimida clorhidrato; MTBE=metil-*tert*-butil eter; Ar=argón; N_2=nitrógeno; R_T=tiempo de retención.

[0316] Los nombres químicos para las estructuras 1-37 se generaron automáticamente utilizando el software ChemDraw®.

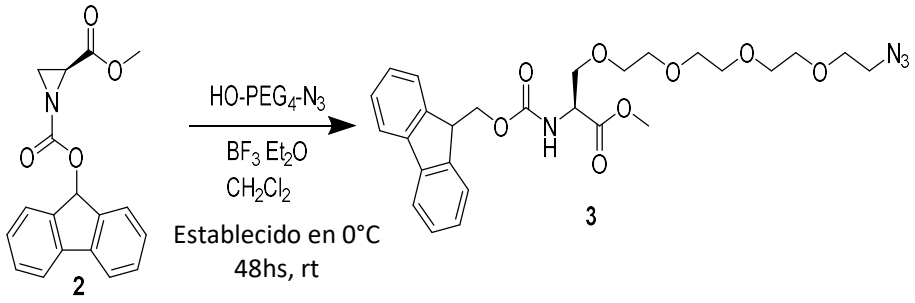
Síntesis de la estructura 1b ácido ((14S,17S)-1-azido-14-(5-((4-metilpiridin-2-il)amino)pentanamido)-17-(4-(naftalen-1-il)fenil)-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azanonadecan-19-oico).



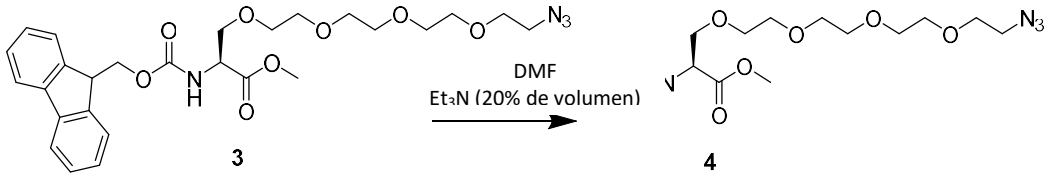
1 2

[0317] El compuesto 1 (metil (S)-(−)-1-tritilaziridina-2-carboxilato (4,204 g, 12,24 mmol, 1,0 equiv.) y triisopropilsilano (3,877 g, 5,02 mL, 24,48 mmol, 2 equiv.) se disolvieron en DCM (40 mL), la solución se enfrió hasta 0 °C, y luego se añadió gota a gota TFA (8,5 eq). La solución permaneció durante 1 hora a 0 °C. La reacción se controló mediante TLC de Hexano : Acetato de etilo (8 : 2). La solución se secó para producir una mezcla de precipitado blanco y aceite amarillo claro. Se agregaron hexanos (40 mL) y se calentaron suavemente sobre una pistola de calor hasta que se disolvió todo el precipitado blanco. La adición de hexanos dio como resultado dos capas, una capa superior transparente y una capa de aceite. Se escurrió la capa de hexano y se retuvo la capa de aceite. La adición de hexanos se repitió y una vez más se escurrió. El aceite se dejó secar. La aziridina (1,06 g, 10,5 mmol) se disolvió en THF/H_2O (2/1) 60 mL en total. Fmoc-OSu (5,312 g, 15,75 mmol, 1,5 eq) y $NaHCO_3$ (2,646 g, 31,5 mmol, 3 eq para mantener pH=8,5) se agregaron a la mezcla a temperatura ambiente y se dejaron reaccionar durante la noche. La reacción se controló por TLC, hexano:acetato de etilo 8:2. La mezcla se concentró hasta que se eliminó todo

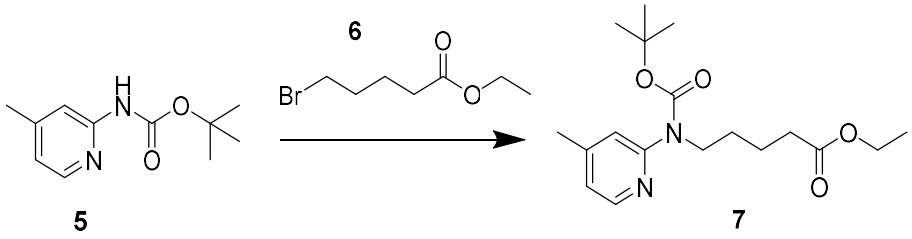
el THF, luego se diluyó con acetato de etilo (350 mL) y H_2O (25 mL). Las capas se separaron y los orgánicos se lavaron con H_2O (40 mL). Los orgánicos se lavaron luego con agua de pH 3-4 (2 x 40 mL), luego H_2O (40 mL), luego solución acuosa saturada de NaCl (40 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 se filtró y se concentró. El producto se purificó en columna de sílice de 10% -20% de acetato de etilo en hexanos.



[0318] El compuesto 2 (Fmoc-aziridina) (1,46 g, 4,52 mmol) y HO-PEG_4-N_3 (1,983 g, 9,04 mmol, 2 eq) se disolvieron en DCM. La mezcla se enfrió hasta 0 °C. Se añadió gota a gota eterato de dietil trifluoruro de boro (12 gotas). La mezcla se agitó a TA durante 48 horas. La reacción se controló por TLC, DCM con 5% de MeOH. La reacción se inactivó con solución saturada de NH_4Cl (5 mL), se diluyó con DCM (60 mL) y se lavó con H_2O (3 x 20 mL), solución acuosa saturada de NaCl (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se purificó en columna de sílice de 40%-60% de acetato de etilo en hexanos.

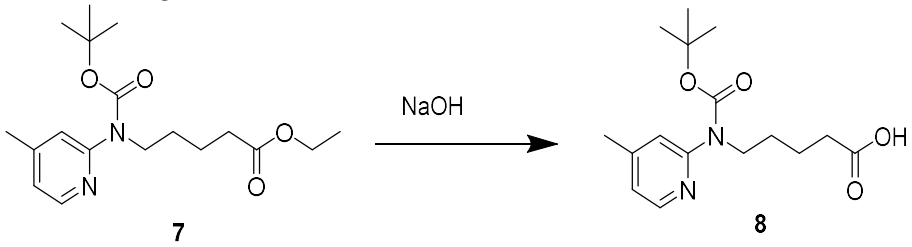


[0319] El compuesto 3 se disolvió en una solución de trietilamina al 20% en DMF. La reacción se monitoreó mediante TLC. El producto se concentró.



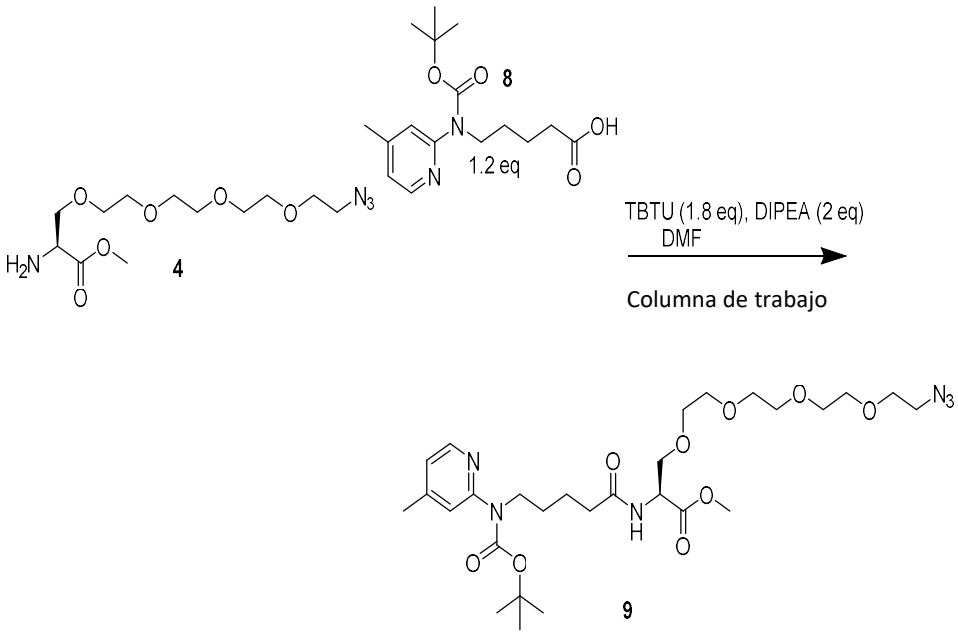
5 7

[0320] El compuesto 5 (tert-butil(4-metilpiridin-2-il)carbamato) (0,501 g, 2,406 mmol, 1,0 equiv.) se disolvió en DMF (17 mL). A la mezcla se le añadió NaH (0,116 mg, 3,01 mmol, 1,25 eq, dispersión al 60% en aceite mineral) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 10 minutos y luego se agregó 5-bromovalerato (0,798 g, 3,82 mmol, 0,604 mL) Después de 3 horas, la reacción se inactivó con etanol (18 mL) y se concentró. El producto se disolvió en DCM (50 mL) y se lavó con solución acuosa saturada de NaCl (50 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se purificó en columna de sílice, gradiente de metanol al 0-5% en DCM.

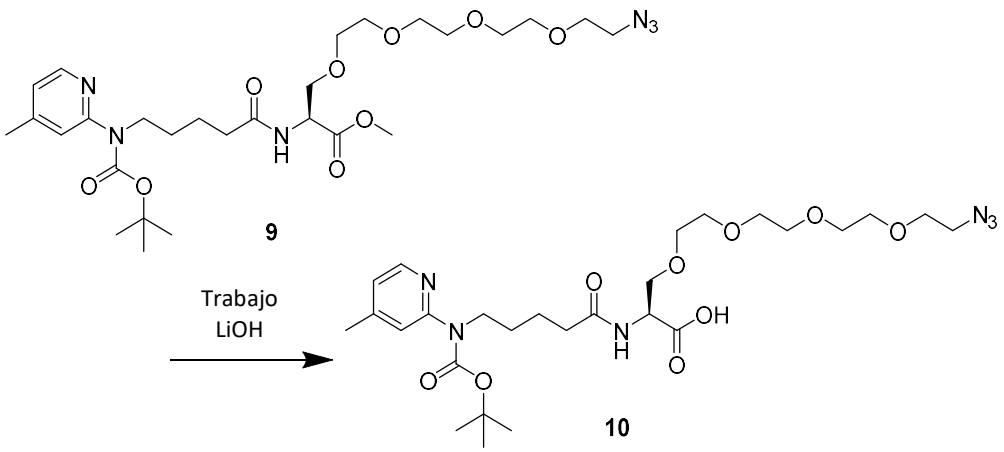


7 8

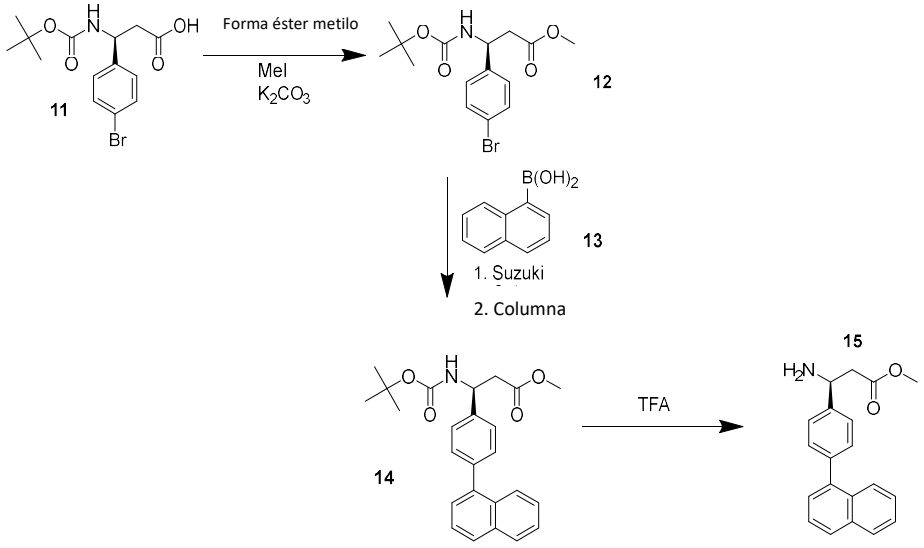
[0321] El compuesto 7 (0,80 g, 2,378 mmol) se disolvió en 100 mL de acetona: NaOH 0,1 M (1:1), y la reacción se controló por TLC (acetato de etilo al 5% en hexano). Los compuestos orgánicos se concentraron y la mezcla se acidificó a pH 3-4 con ácido cítrico 0,3 M (40 mL). El producto se extrajo con DCM (3×75 mL). Las fases orgánicas se agruparon, se secaron sobre Na_2SO_4 se filtraron y se concentraron. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional.



[0322] El compuesto 4 se disolvió (0,340 g, 1,104 mmol) en DMF (10 mL). A la solución se le añadió TBTU (0,531 g, 1,655 mmol) y diisopropiletilamina (0,320 mL, 1,839 mmol). Luego se añadió el compuesto 8 (0,295 g, 0,9197 mmol). La reacción se controló por LC-MS y TLC (DCM con 5% de MeOH). La reacción se completó en 2 horas. El producto se concentró y se disolvió en acetato de etilo (150 mL) y se lavó con H_2O de pH 3-4 (2x12 mL). Luego el producto se lavó con H_2O (2 x 12 mL), solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (12 mL) y luego solución acuosa saturada. de NaCl (12 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se purificó en columna de sílice, 20% de hexanos en acetato de etilo hasta 100% de acetato de etilo.



[0323] El compuesto 9 se disolvió (0,330 g, 0,540 mmol) en 10 mL de MeOH:dioxano [1:1] y solución de LiOH 1 M (10 mL). La mezcla se agitó a ta durante 2 horas, y se controló por LC-MS y TLC (EtOAc). Los compuestos orgánicos se concentraron y la mezcla se diluyó con H_2O (5 mL) y se acidificó hasta un pH de 4. El producto se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 mL). Los compuestos orgánicos se agruparon y se lavaron con solución acuosa saturada: NaCl (10 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional.

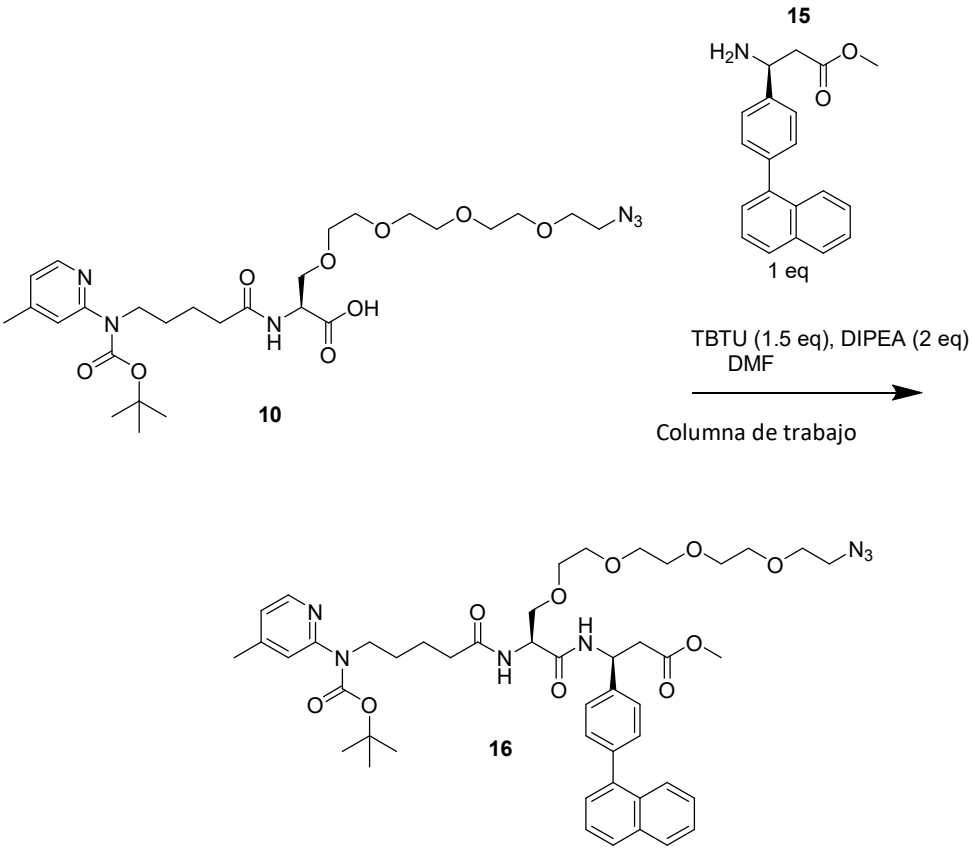


[0324] El compuesto ácido 11 ((S)-3-(4-bromofenil)-3-((tert-butoxicarbonil)amino)-propiónico) (2,0 g, 5,81 mmol) se disolvió en DMF (40 mL). A la mezcla se le añadió K_2CO_3 (1,2 g, 8,72 mmol). Luego se añadió

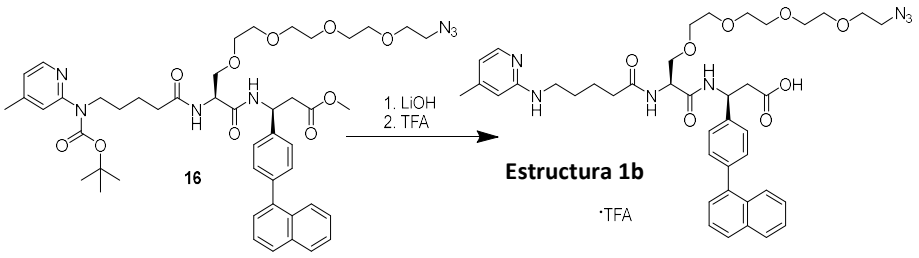
yodometano (1,65 g, 11,62 mmol, 0,72 mL). La reacción se controló por TLC (hexano : acetato de etilo (7 :3)). Al completarse, la mezcla se enfrió hasta 0 °C y se agregaron H_2O (20 mL) y MTBE (40 mL). El producto se extrajo con MTBE (4×40 mL). La fase orgánica combinada se lavó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (40 mL) y luego H_2O (4 x 40 mL). La mezcla se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró.

[0325] Al compuesto 12 de producto seco (1,0 g, 2,7915 mmol) se le añadió el compuesto 13 (ácido 1-naftaleno borónico (0,960 g, 5,583 mmol, 2 eq)). A la mezcla se le añadió [1,1′-Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II) o $Pd(dppf)Cl_2$ (0,0817 g, 0,1117 mmol, 0,4 eq) junto con Na_2CO_3 (0,888 g, 8,375 mmol, 3 eq). A continuación, se añadieron 1,4-dioxano (5 mL) y H_2O (0,2 mL), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 4 h. La reacción se controló por TLC (hexano : acetato de etilo (7 :3)). El producto se purificó mediante cromatografía en columna de sílice, gradiente del 0% al 50% de acetato de etilo en hexanos.

[0326] El compuesto 14 (0,200 g, 0,493 mmol) se disolvió en DCM (2,5 mL) y luego se añadió TFA (0,45 mL). La reacción se controló por TLC, (DCM : metanol (9 : 1)). Al finalizar, la mezcla de reacción se concentró. El residuo se disolvió en DCM (4 mL) y se lavó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (2 x 2 mL) y luego solución acuosa saturada. de NaCl (2 x 2 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional.

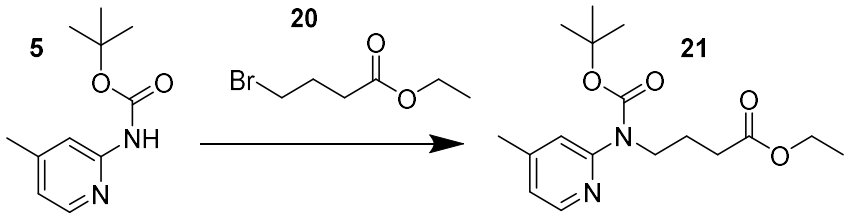


[0327] El compuesto 10 (0,3224 g, 0,54 mmol) se disolvió en DMF (7 mL). A la mezcla se le añadió TBTU (0,236 g, 0,735 mmol) y diisopropiletilamina (0,170 mL, 0,98 mmol). Luego se añadió el compuesto 15 (0,1496 g, 0,49 mmol). La reacción se agitó a TA durante 2 horas. La reacción se monitoreó mediante LC-MS. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo (90 mL) y se lavó con H_2O de pH 3-4 (3 x 10 mL). El producto se lavó con H_2O (2 x 10 mL), solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y luego solución acuosa saturada. de NaCl (1 x 10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se purificó por cromatografía de sílice usando DCM, gradiente a MeOH al 5%.



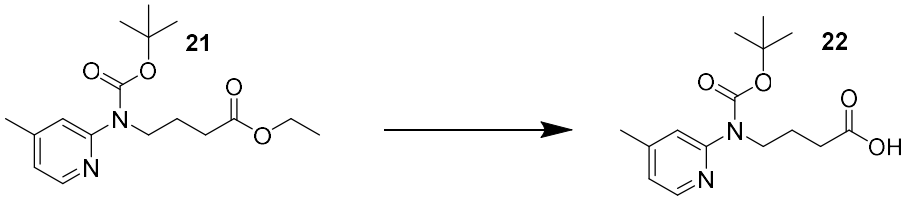
[0328] El compuesto 16 se disolvió (0,250 g, 0,2828 mmol) en MeOH : dioxano [1:1] (4 mL) y LiOH 1 M (4 mL). La mezcla se agitó a TA durante 2 h. Los compuestos orgánicos se concentraron y el residuo se diluyó con H_2O (3 mL) y se acidificó hasta un pH de 4. El producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). Los compuestos orgánicos se agruparon y se lavaron con solución acuosa saturada. de NaCl (10 mL). El producto se secó sobre Na_2SO_4. El producto se disolvió (0,200 g, 0,2299 mmol) en 2 mL de DCM: TFA [25:75] y se agitó a TA durante 2 horas. A la mezcla se le añadió tolueno (4 mL). La mezcla se concentró y luego se coevaporó con acetonitrilo (2 x 4 mL). El producto se purificó por HPLC, gradiente de 35% de ACN a 50% durante 30 minutos, 0,1% de tampón de TFA. => [M+H]+ calculado para $C_{41}H_{51}N_7O_8$: 769,90, hallado: 770,45; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8,64 (d, 1H), 8,07 (d, 1H), 8,00 (d, 1H), 7,95 (d, 1H), 7,78 (t, 2H), 7,60-7,40 (m, 8H), 6,80 (s, 1H), 6,67 (d, 1H), 5,31 (q, 1H), 4,55 (m, 1H), 3,62–3,45 (m, 18H), 3,40 (t, 2H), 3,25 (m, 2H), 2,80 (dd, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,20 (t, 2H), 1,55 (m, 4H).

Síntesis de la estructura 2b ácido ((14S,17S)-1-azido-14-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)-17-(4-(naftalen-1-il)fenil)-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azanonadecan-19-oico).

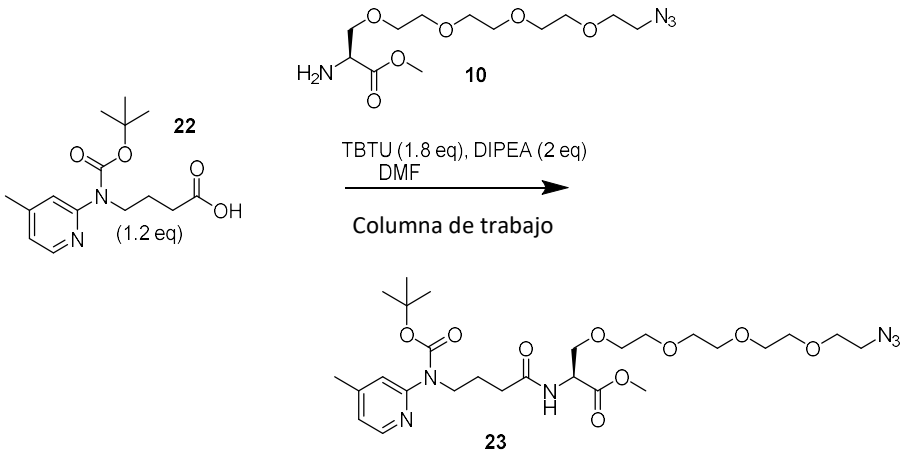


[0329] El compuesto 5 (tert-butil(4-metilpiridin-2-il)carbamato) (0,501 g, 2,406 mmol, 1 equiv.) se disolvió en DMF (17 mL). A la mezcla se le añadió

NaH (0,116 mg, 3,01 mmol, 1,25 equiv., dispersión al 60% en aceite). La mezcla se agitó durante 10 minutos antes de agregar el Compuesto 20 (4-bromobutirato de etilo (0,745 g, 3,82 mmol, 0,547 mL)) (Sigma 167118). Después de 3 horas, la reacción se inactivó con etanol (18 mL) y se concentró. El concentrado se disolvió en DCM (50 mL) y se lavó con solución acuosa saturada de NaCl (1 x 50 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se purificó en columna de sílice, gradiente de metanol al 0-5% en DCM.

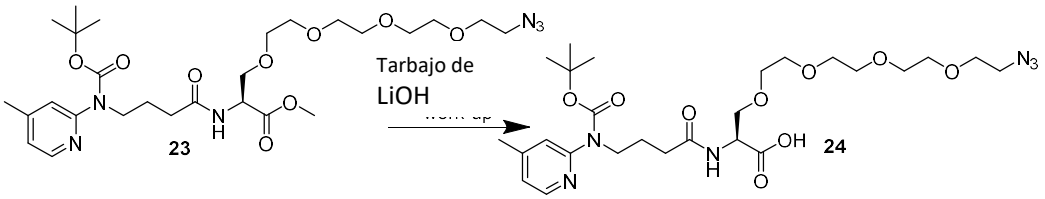


[0330] El compuesto 21 (0,80 g, 2,378 mmol) se disolvió en 100 mL de acetona: NaOH 0,1 M [1:1]. La reacción se controló por TLC (acetato de etilo al 5% en hexano). Los compuestos orgánicos se concentraron y el residuo se acidificó a pH 3-4 con ácido cítrico 0,3 M (40 mL). El producto se extrajo con DCM (3×75 mL). Las fases orgánicas se agruparon, se secaron sobre Na_2SO_4 se filtraron y se concentraron. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional

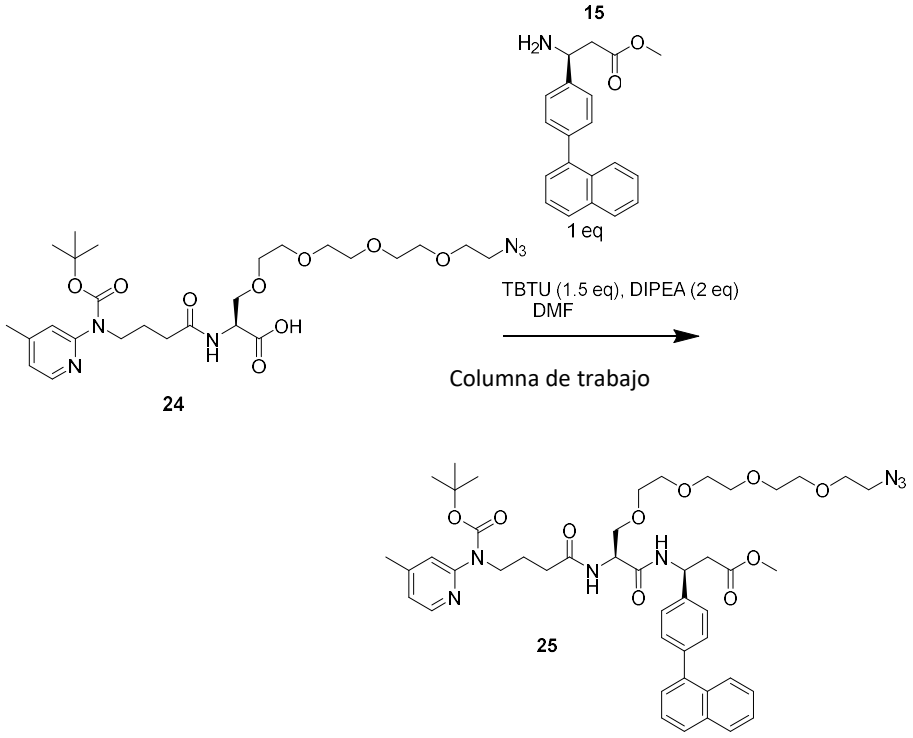


[0331] El compuesto 22 se disolvió (0,340 g, 1,104 mmol) en DMF (10 mL). A la mezcla se le añadió TBTU (0,531 g, 1,655 mmol) y diisopropiletilamina (0,320 mL, 1,839 mmol). Luego se añadió el compuesto 10

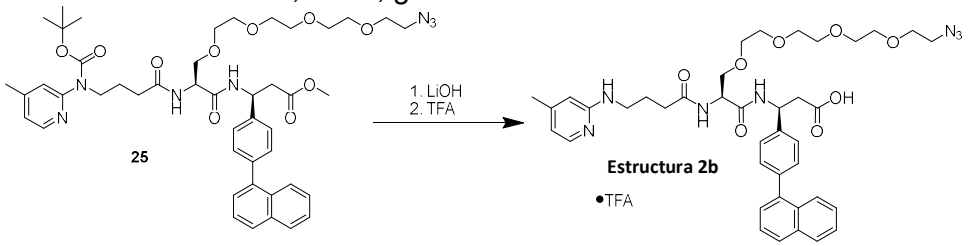
(0,295 g, 0,9197 mmol). La reacción se controló por LC-MS y TLC (DCM con 5% de MeOH). La reacción se completó en 2 h. La mezcla se concentró, se disolvió en acetato de etilo (150 mL) y se lavó con H_2O de pH 3-4 (2 x 12 mL). Luego, la mezcla se lavó con H_2O (2 x 12 mL), solución acuosa saturada. $NaHCO_3$ (12 mL) y luego solución acuosa saturada. de NaCl (12 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se purificó en columna de sílice, 20% de hexanos en acetato de etilo hasta 100% de acetato de etilo.



[0332] El compuesto 23 se disolvió (0,330 g, 0,540 mmol) en 10 mL de MeOH : Dioxano [1:1] y LiOH 1 M (10 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se controló por LC-MS y TLC (EtOAc al 100%). Los compuestos orgánicos se concentraron y el residuo se diluyó con H_2O (5 mL) y se acidificó hasta un pH de 4. El producto se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 mL). La fase orgánica combinada se lavó con solución acuosa saturada. de NaCl (1 x 10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional.



[0333] El compuesto 24 se disolvió (0,3224g, 0,54 mmol) en DMF (7 mL). A la mezcla se le añadió TBTU (0,236 g, 0,735 mmol) y diisopropiletilamina (0,170 mL, 0,98 mmol). Se añadió luego el compuesto 15 (0,1496 g, 0,49 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se monitoreó mediante LC-MS. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo (90 mL) y se lavó con H_2O de pH 3-4 (3 x 10 mL). El concentrado se lavó con H_2O (2 x 10 mL), solución acuosa saturada. $NaHCO_3$ (10 mL) y luego solución acuosa saturada. de NaCl (10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El producto se purificó en columna de sílice, DCM, gradiente a MeOH al 5%.

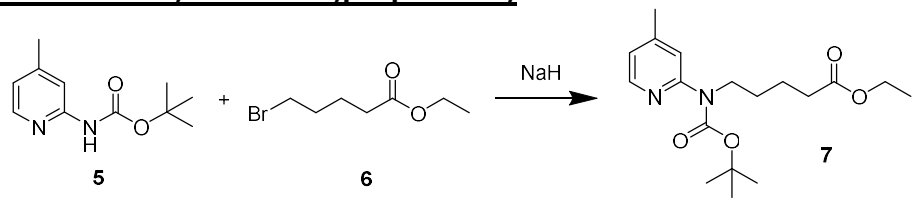


[0334] El compuesto 25 se disolvió (0,250 g, 0,2828 mmol) en MeOH : Dioxano [1:1] (4 mL) y LiOH 1 M (4 mL). La mezcla se agitó a temperatura

ambiente durante 2 horas y se controló por LC-MS. Los compuestos orgánicos se concentraron y el residuo se diluyó con H_2O (3 mL) y se acidificó hasta un pH de 4. El producto se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). Los compuestos orgánicos se agruparon y se lavaron con solución acuosa saturada. de NaCl (1 x 10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El residuo se disolvió (0,200 g, 0,2299 mmol) en 2 mL de DCM/TFA (25/75) y se agitó a TA durante 2 horas mientras se controlaba por LC-MS. Se añadió tolueno (4 mL) y la mezcla se concentró. Luego se añadió acetonitrilo (2 x 4 mL), y la mezcla se concentró. El producto se purificó en HPLC, gradiente de 35% de ACN a 50% durante 30 minutos, 0,1% de tampón de TFA. [M+H]+ calculado para $C_{40}H_{49}N_7O_8$: 755,87, hallado: 756,32; ^{1}H NMR (400 MHz, DMSO) δ 8,64 (t, 1H), 8,17–8,10 (m, 1H), 8,00 (d, 1H), 7,95 (d, 1H), 7,80 (d, 1H), 7,75 (t, 1H), 7,60-7,40 (m, 8H), 6,8 (s, 1H), 6,67 (d, 1H), 5,31 (q, 1H), 4,55 (m, 1H), 3,62–3,45 (m, 18H), 3,40 (t, 2H), 3,25 (m, 2H), 2,80 (dd, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,26 (t, 2H), 1,80 (m, 2H).

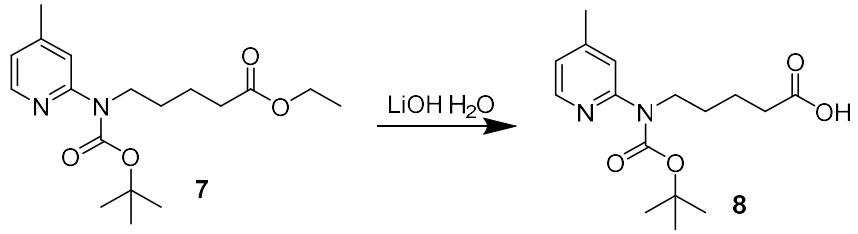
Síntesis de la Estructura 5b, 5.1b y 5.2b.

Estructura 5b ácido (3-(4-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)-3,5-diclorofenil)-3-(2-(5-((4-metilpiridin-2-il)amino)pentanamido)acetamido)propanoico)

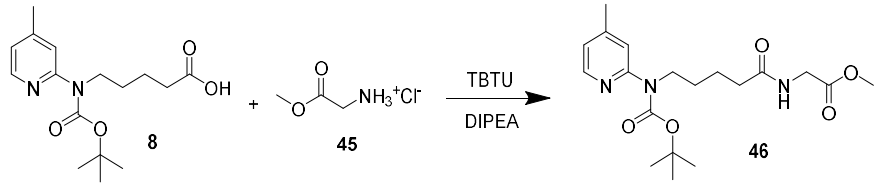


[0335] A una suspensión del Compuesto 5 (0,98 g, 4,70 mmol, 1 equiv.) en DMF seco (10 mL) se le añadió NaH (0,226 g, 5,647 mmol, 1,2 equiv., dispersión de aceite al 60%) por porciones a 0 °C bajo atmósfera de N_2. La mezcla de reacción se mantuvo a 0 °C durante 30 min y luego se agregó compuesto 6 (1,18 mL, 5,647 mmol, 1,2 equiv.) a la misma temperatura.

Después de agitar adicionalmente a 0 °C durante 30 min, la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, la reacción se inactivó con solución acuosa saturada de NH_4Cl. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó por CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. LC-MS: [M+H]+ 337,20, hallado 337,39.



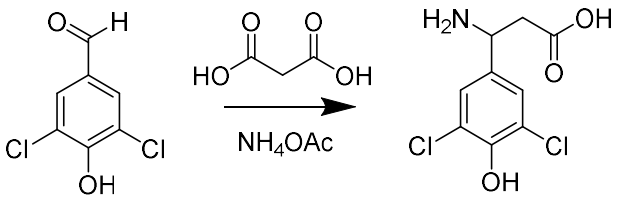
[0336] A una solución del compuesto 7 (1,347 g, 4,00 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio monohidrato (0,505 g, 12,01 mmol, 5 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 4,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: [M+H]+ 309,17, hallado 309,39.



[0337] A una solución de Compuesto 8 (1,163 g, 3,77 mmol, 1 equiv.), Compuesto 45 (568 mg, 4,52 mmol, 1,2 equiv.) y TBTU (1,453 g, 4,52 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió diisopropiletilamina (1,97 mL, 11,31 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La reacción se inactivó mediante solución saturada de $NaHCO_3$ (20 mL). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4

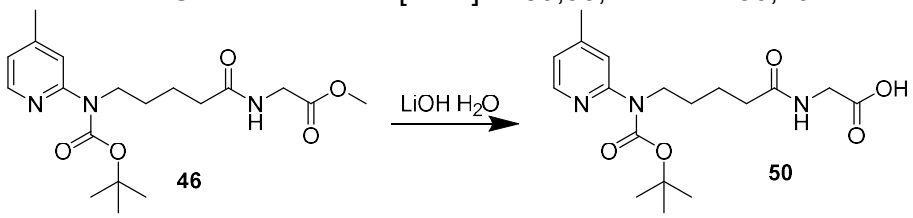
anhidro y se concentró. El producto se separó por CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. LC-MS: calculado [M+H]+ 380,21, hallado 380,51.

48



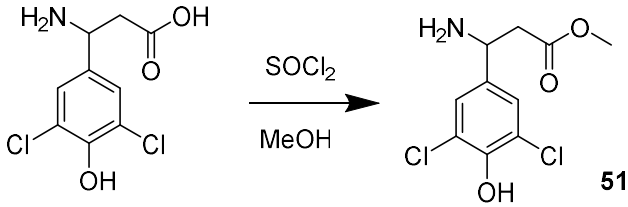
47 49

[0338] A una solución de compuesto 47 (1,0 g, 5,23 mmol, 1 equiv) y ácido malónico (1,09 g, 10,47 mmol, 2 equiv) en etanol (10 mL) se le agregó acetato de amonio (0,807 mg, 10,47 mmol, 2,0 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción agitó bajo reflujo durante la noche. El sólido se filtró y se lavó con etanol frío. El producto se usó directamente para los siguientes pasos sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 250,00, hallado 250,16.



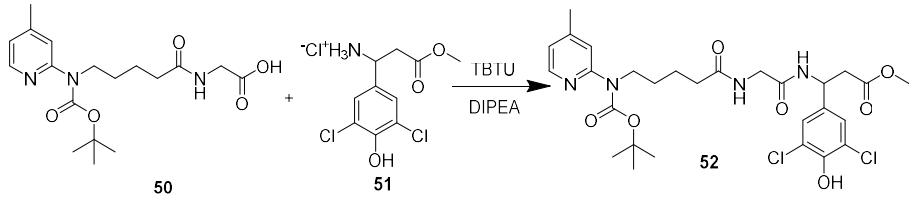
46 50

[0339] A una solución del compuesto 46 (1,412 g, 3,72 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio monohidrato (0,469 g, 11,16 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 4,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: calculado [M+H]+ 366,20, hallado 366,46.



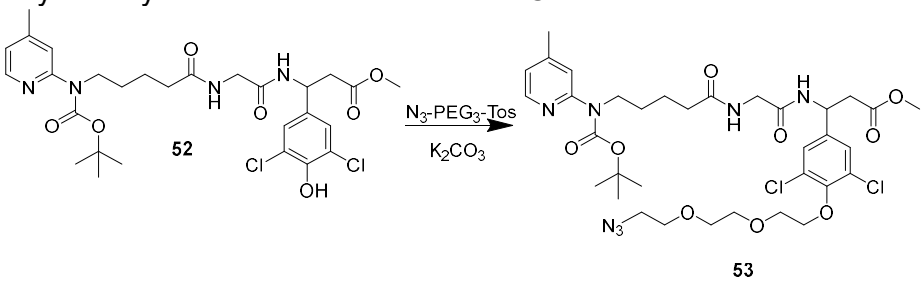
49 51

[0340] A una suspensión de compuesto 49 (0,531 g, 2,12 mmol, 1 equiv.) en metanol anhidro (10 mL) se le añadió cloruro de tionilo (308 µL, 4,24 mmol, 2,0 equiv.) en baño de hielo. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El solvente se eliminó bajo presión reducida y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 264,01, hallado 264,20.



50 51 52

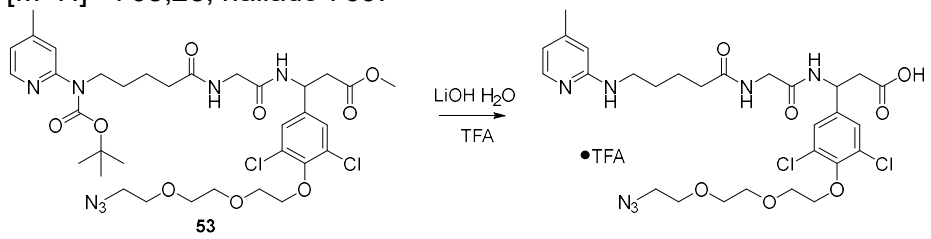
[0341] A una solución de compuesto 50 (150 mg, 0,410 mmol, 1 equiv.), compuesto 51 (148 mg, 0,492 mmol, 1,2 equiv.) y TBTU (158 mg, 0,492 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (5 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,214 mL, 1,23 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-4% en DCM.



52 53

[0342] A una solución de compuesto 52 (80 mg, 0,130 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_3-OT (86 mg, 0,262 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió K_2CO_3 (36 mg, 0,262 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 80 °C. El solvente se eliminó mediante evaporador rotativo. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

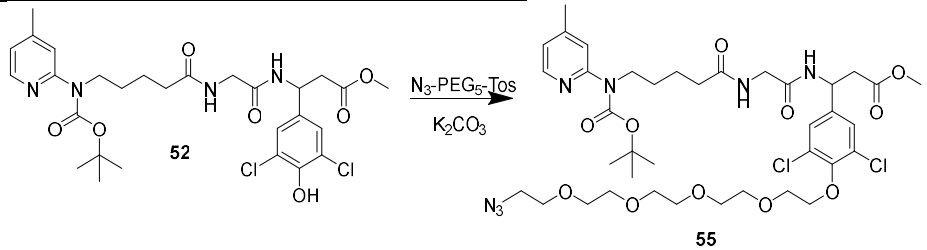
como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 768,28, hallado 769.



53 Estructura 5b

[0343] A una solución del compuesto 53 (58 mg, 0,0755 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio monohidrato (10 mg, 0,226 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 2 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (0,25 mL) y DCM (0,75 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 654,21, hallado 655.

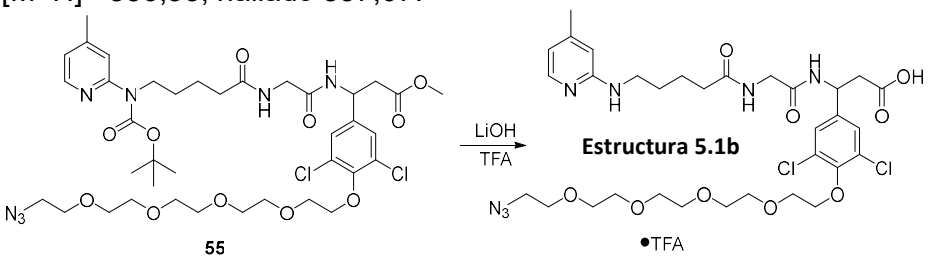
Estructura 5.1b ácido (3-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)-3,5-diclorofenil)-3-(2-(5-((4-metilpiridin-2-il)amino)pentanamido)acetamido)propanoico)



52 55

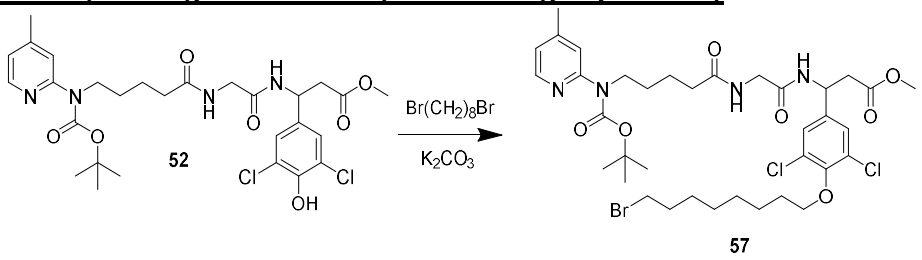
[0344] A una solución de compuesto 52 (100 mg, 0,163 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OT (205 mg, 0,491 mmol, 3 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió K_2CO_3 (68 mg, 0,491 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 80 °C. El solvente se eliminó mediante evaporador rotativo. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 856,33, hallado 857,07.



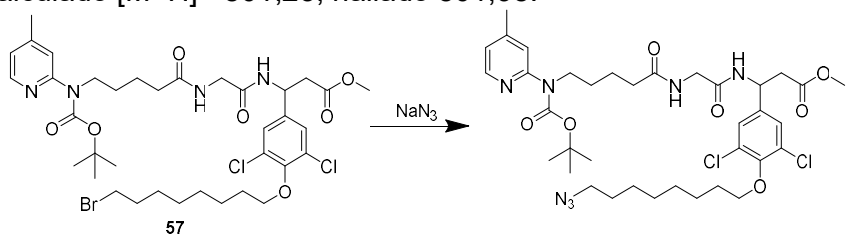
[0345] A una solución del compuesto 55 (119 mg, 0,139 mmol, 1,0 equiv.) en THF (4 mL) y agua (4 mL) se le añadió hidróxido de litio (10 mg, 0,417 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra 1 hora. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (2 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 742,27, hallado 743,02.

Estructura 5.2b (3-(4-((8-azidooctil)oxi)-3,5-diclorofenil)-3-(2-(5-((4-metilpiridin-2-il)amino)pentanamido)acetamido)propanoico)



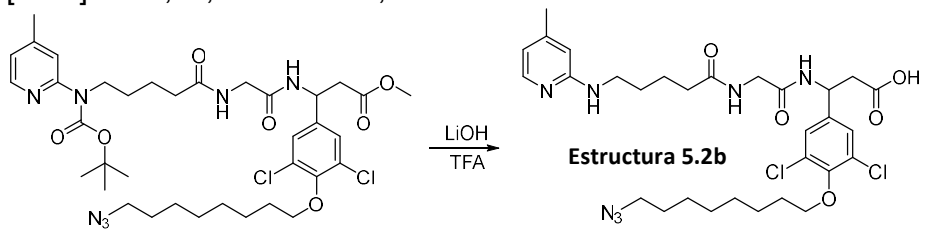
[0346] A una solución de compuesto 52 (89 mg, 0,14 mmol, 1 equiv) y 1,8-dibromooctano (80 uL, 0,436 mmol, 3 equiv.) en acetona (2 mL) se le agregó K_2CO_3 (60 mg, 0,436 mmol, 3 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a 55 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo

(3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: calculado [M+H]+ 801,23, hallado 801,98.



57 58

[0347] A una solución del compuesto 57 (97 mg, 0,114 mmol, 1 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió azida de sodio (15 mg, 0,229 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a 80 °C. La reacción se inactivó con agua y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó directamente sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 764,32, hallado 765,07.

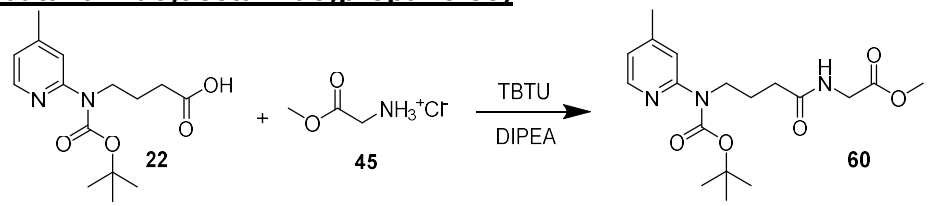


58

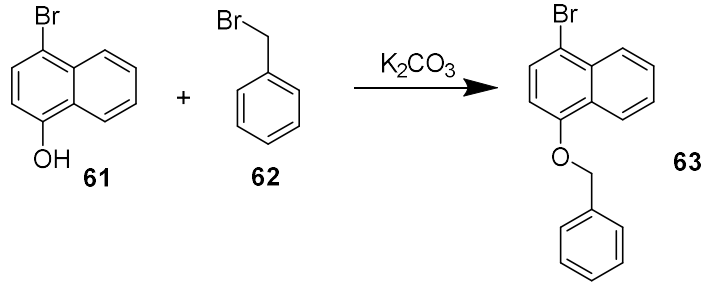
[0348] A una solución del compuesto 58 (78 mg, 0,101 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (7 mg, 0,304 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra 1 hora. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (2 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 650,25, hallado 650,83.

Síntesis de la Estructura 6b, 6.1b, 6.2b, 6.3b y 6.4b.

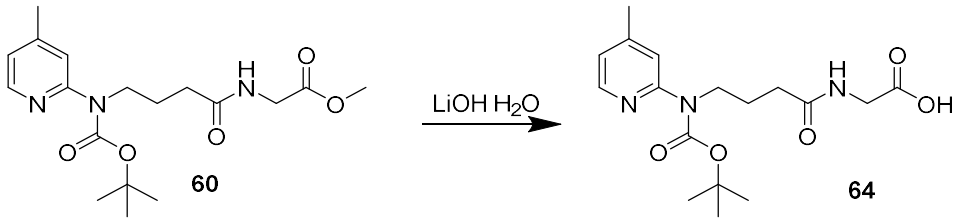
Estructura 6b ácido ((S)-3-(4-(4-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico)



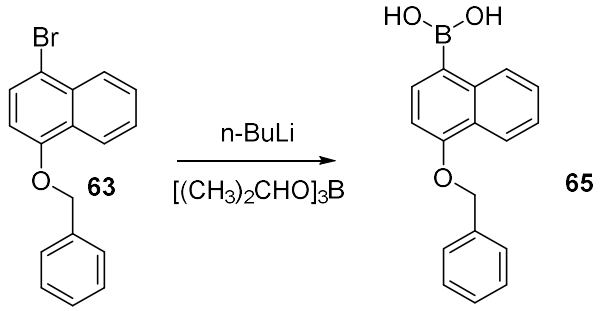
[0349]A una solución de Compuesto 22 (1,1 g, 3,95 mmol, 1 equiv.), Compuesto 45 (595 mg, 4,74 mmol, 1,2 equiv.) y TBTU (1,52 g, 4,74 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió diisopropiletilamina (2,06 mL, 11,85 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La reacción se inactivó mediante solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. El producto se separó por CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. LC-MS: calculado [M+H]+ 366,20, hallado 367.



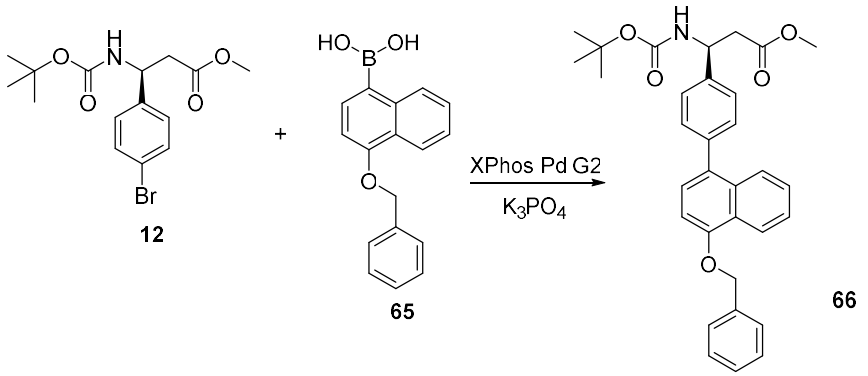
[0350]A una solución de compuesto 61 (2 g, 8,96 mmol, 1 equiv.), y compuesto 62 (2,13 mL, 17,93 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió K_2CO_3 (2,48 g, 17,93 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se inactivó con agua (10 mL). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. El producto se separó por CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria.



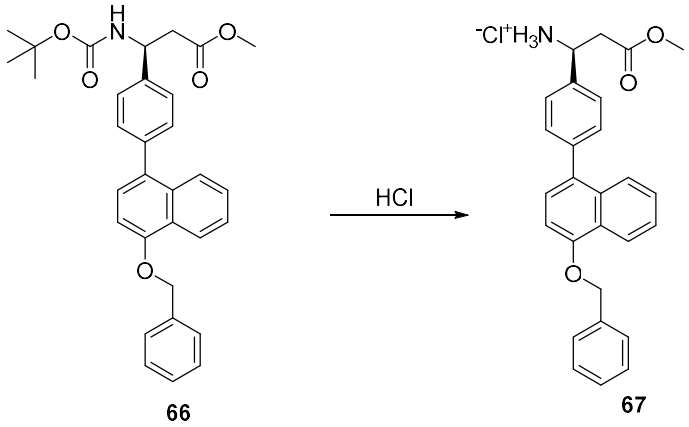
[0351] A una solución del compuesto 60 (1,77 g, 4,84 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio monohidrato (0,61 g, 14,53 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: calculado [M+H]+ 352,18, hallado 352.



[0352] A una solución de compuesto 63 (1,88 g, 6,0 mmol, 1,0 equiv.) en THF anhidro (20 mL) se le añadió n-BuLi en hexano (3,6 mL, 9,0 mmol, 1,5 equiv.) gota a gota a -78 °C. La reacción se mantuvo a -78 °C durante otra hora. Luego se añadió borato de triisopropilo (2,08 mL, 9,0 mmol, 1,5 equiv.) a la mezcla a -78 °C. La reacción se calentó luego hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de NH^4Cl (20 mL) y el pH se ajustó a 3. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró.

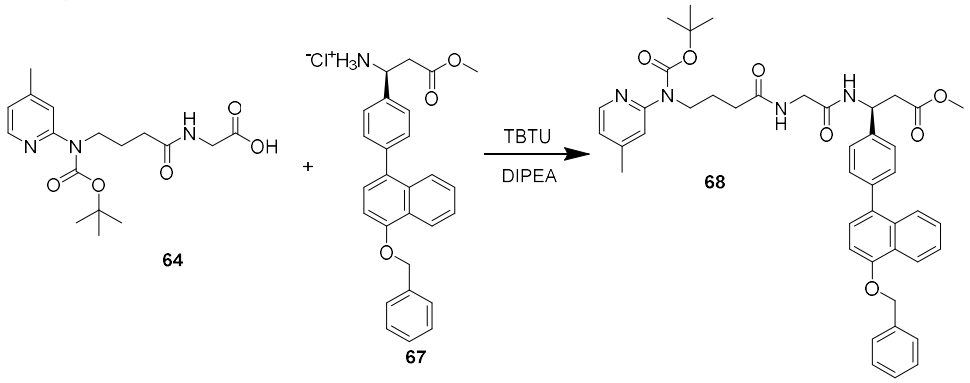


[0353] El Compuesto 12 (300 mg, 0,837 mmol, 1,0 equiv.), Compuesto 65 (349 mg, 1,256 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (13 mg, 0,0167 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (355 mg, 1,675 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (8 mL) y agua (2 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 20 min y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se concentró y se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con EtOAc al 15% en hexano. LC-MS: calculado [M+H]+ 512,24, hallado 512,56.



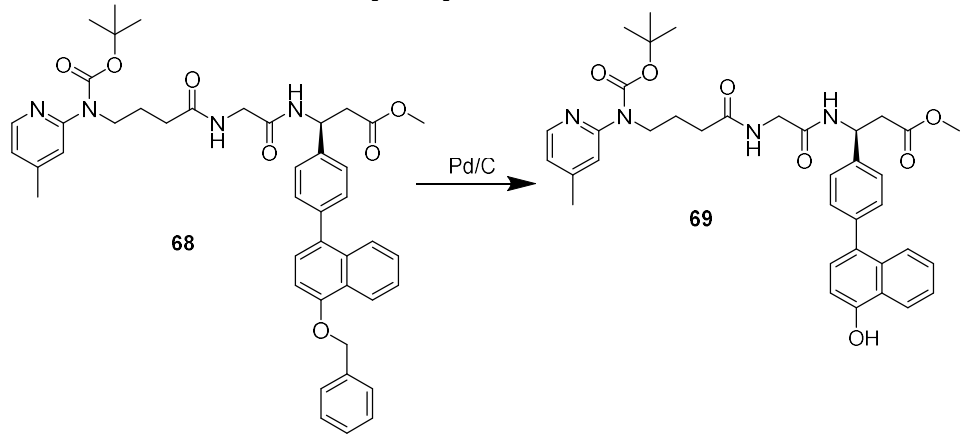
[0354] El compuesto 66 (858 mg, 1,677 mmol, 1,0 equiv.) se enfrió por baño de hielo. Se añadió HCl en dioxano (8,4 mL, 33,54 mmol, 20 equiv.) al matraz. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante

otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 412,18, hallado 412,46.



64 67 68

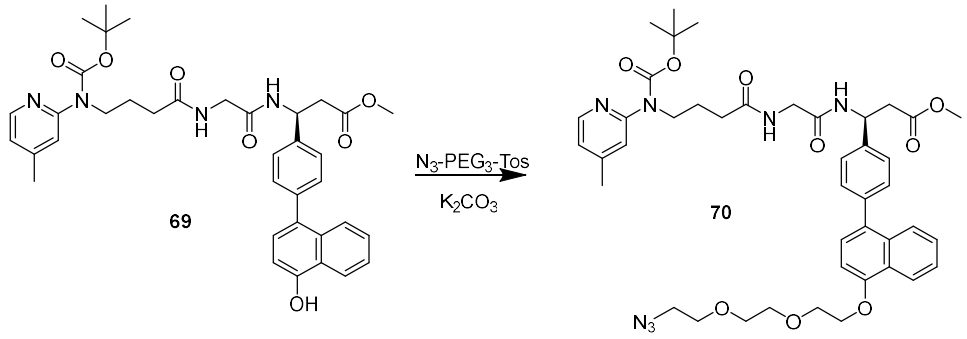
[0355] A una solución de compuesto 64 (500 mg, 1,423 mmol, 1 equiv.), compuesto 67 (669 mg, 1,494 mmol, 1,05 equiv.) y TBTU (548 mg, 0,492 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (15 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,744 mL, 4,268 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. El rendimiento fue del 96,23%. LC-MS: calculado [M+H]+ 745,35, hallado 746,08.



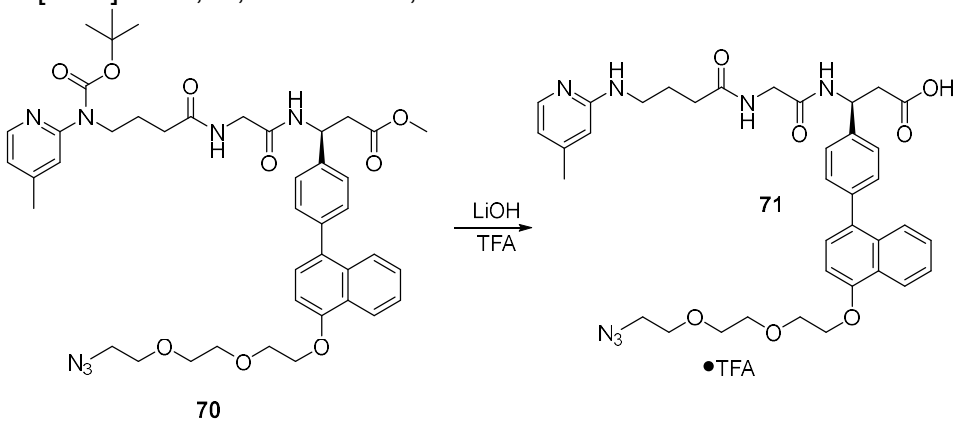
68 69

[0356] A una solución del compuesto 68 (1,02 g, 1,369 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (0,15 g, H_2O al 50%) a

temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y la reacción se controló por LC-MS. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche. Los sólidos se filtraron a través de Celite® y el solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. El producto se utilizó directamente sin ninguna purificación adicional. LC-MS: [M+H]+ 655,31, hallado 655,87.



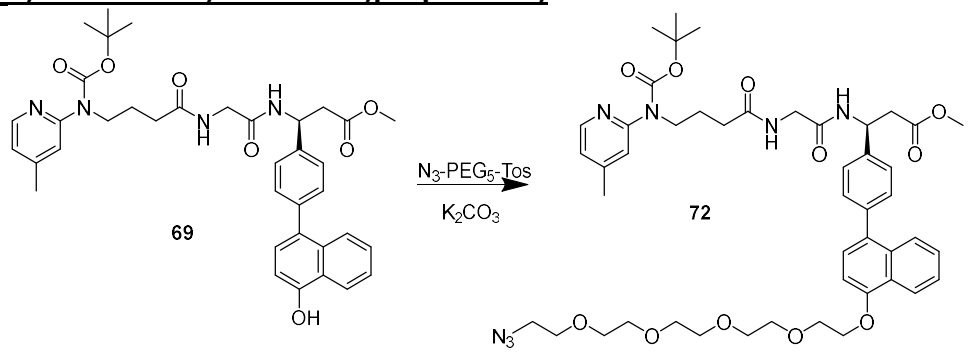
[0357] A una solución de compuesto 69 (100 mg, 0,152 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_3-OT (100 mg, 0,305 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió K_2CO_3 (42 mg, 0,305 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a 80 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó por CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. LC-MS: calculado [M+H]+ 812,39, hallado 813,14.



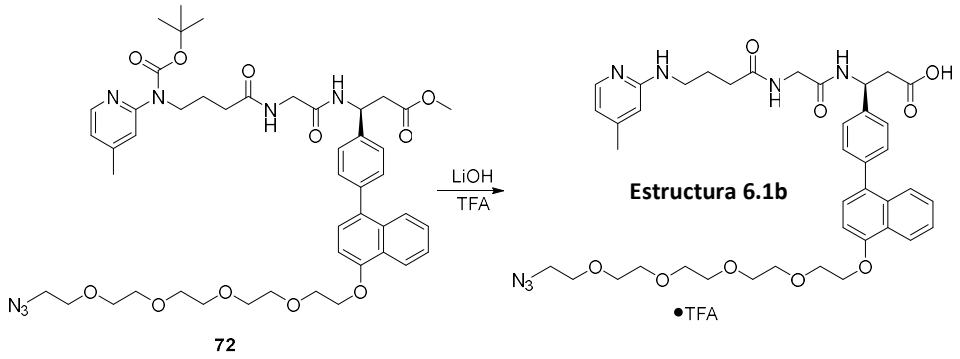
[0358] A una solución del compuesto 70 (77 mg, 0,0948 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (7 mg, 0,284 mmol,

3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 2 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (0,5 mL) y DCM (0,5 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 698,32, hallado 698,81.

Estructura 6.1b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico)



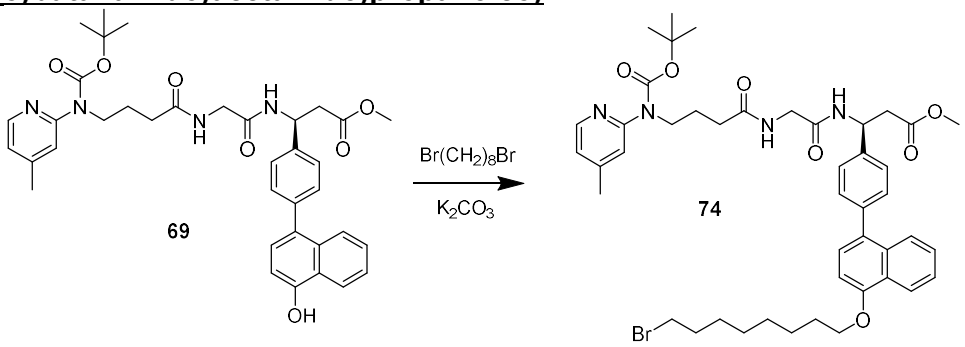
[0359] A una solución de compuesto 69 (100 mg, 0,152 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OT (128 mg, 0,305 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió K_2CO_3 (42 mg, 0,305 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 6 horas a 80 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: calculado [M+H]+ 900,40, hallado 901,46.



72

[0360] A una solución del compuesto 72 (59 mg, 0,0656 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (5 mg, 0,197 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra 1 hora. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (0,5 mL) y DCM (0,5 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 786,37, hallado 786,95.

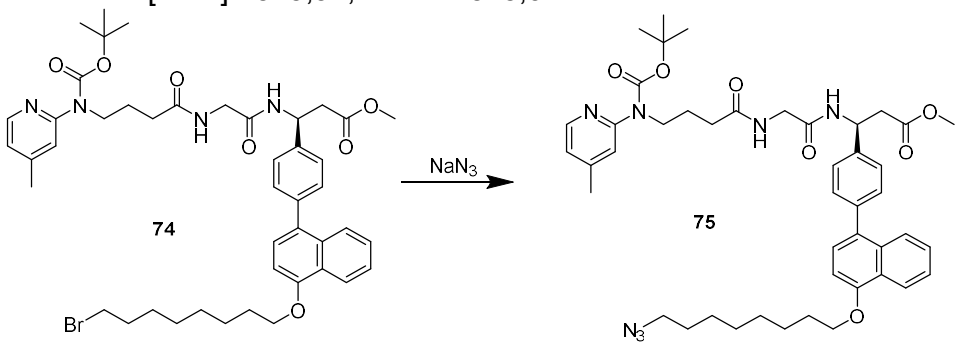
Estructura 6.2b ácido ((S)-3-(4-(4-((8-azidooctil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico)



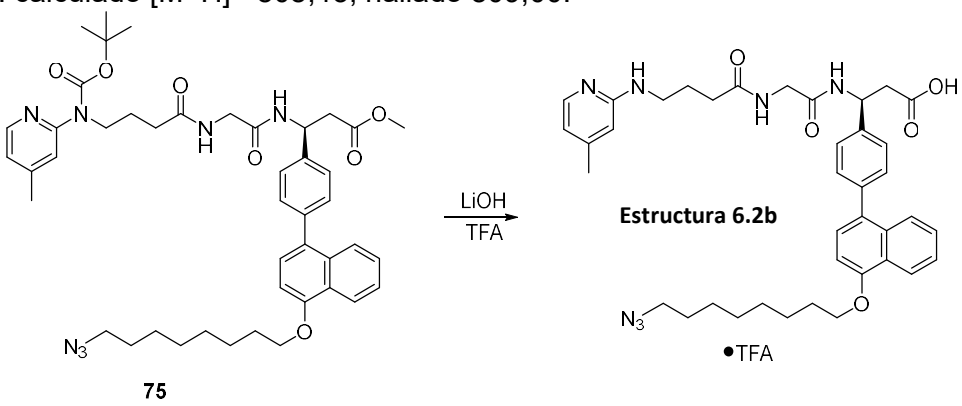
69 74

[0361] A una solución de compuesto 69 (150 mg, 0,229 mmol, 1 equiv) y 1,8-dibromooctano (127 uL, 0,687 mmol, 3 equiv.) en acetona (2 mL) se le agregó K_2CO_3 (95 mg, 0,687 mmol, 3 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a 55 °C. La reacción se inactivó con una

solución saturada de $NaHCO_3$ y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: calculado [M+H]+ 845,34, hallado 845,91.



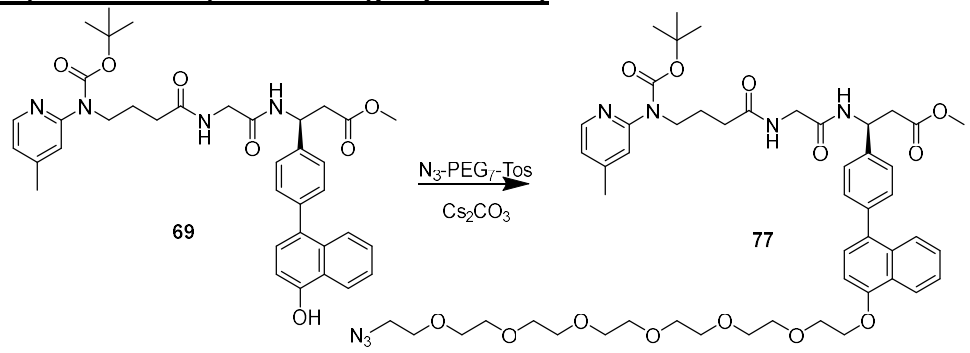
[0362] A una solución del compuesto 74 (97 mg, 0,114 mmol, 1 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió azida de sodio (15 mg, 0,229 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a 80 °C. La reacción se inactivó con agua y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: calculado [M+H]+ 808,43, hallado 809,00.



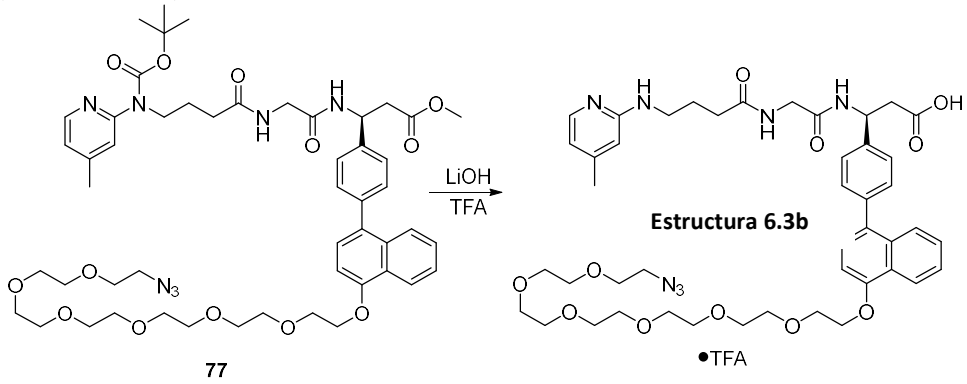
[0363] A una solución del compuesto 75 (92 mg, 0,114 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (8 mg, 0,342 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra 1 hora. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (0,5 mL) y DCM (0,5 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó

mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 694,36, hallado 694,94.

Estructura 6.3b ácido ((S)-3-(4-(4-((20-azido-3,6,9,12,15,18-hexaoxaicosil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico)



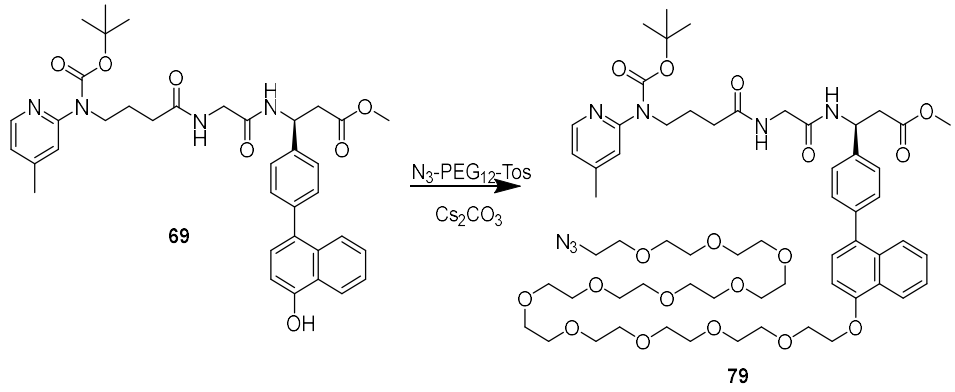
[0364] A una solución de compuesto 69 (100 mg, 0,152 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_7-OT (154 mg, 0,305 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió Cs_2CO_3 (100 mg, 0,305 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a 40 °C. La reacción se inactivó con solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y el producto se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 988,50, hallado 989,14.



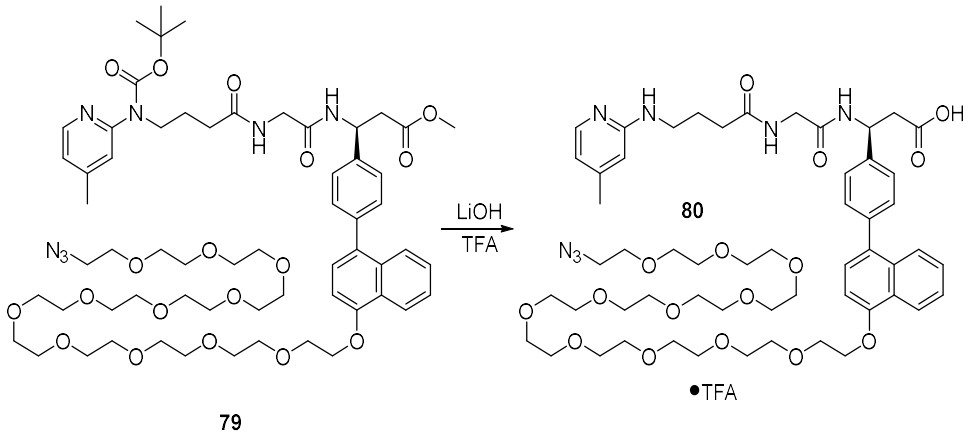
[0365] A una solución del compuesto 21 (112 mg, 0,113 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (8 mg, 0,340 mmol,

3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 874,43, hallado 875,08.

Estructura 6.4b ((S)-3-(4-(4-((35-azido-3,6,9,12,15,18,21,24,27,30,33-undecaoxapentatriacontil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico)

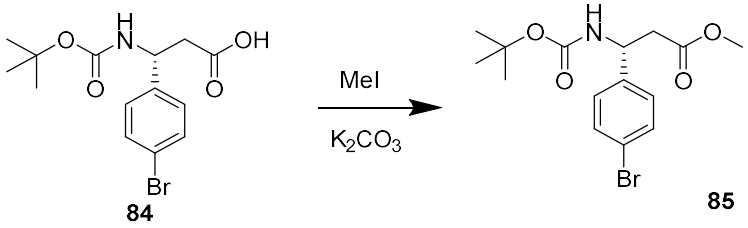


[0366]A una solución de compuesto 69 (80 mg, 0,122 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_{12}-OT (184 mg, 0,244 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió Cs_2CO_3 (80 mg, 0,244 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 5 horas. La reacción se inactivó con solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 1208,63, hallado 1209,21.

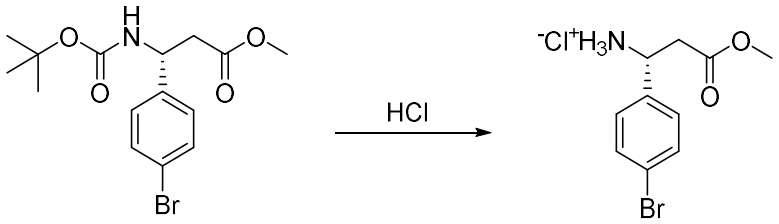


[0367]A una solución del compuesto 82 (100 mg, 0,0972 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (7 mg, 0,292 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. CL-EM: calculado [M+H]+ 1094,56, 1095,05.

Síntesis de la Estructura 7b ácido ((R)-3-(4-(4-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico)

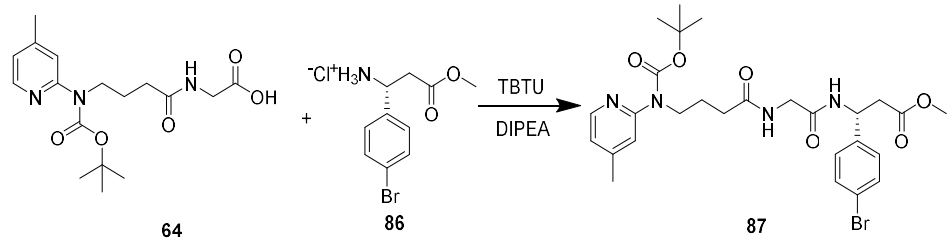


[0368]A una solución de compuesto 84 (1,0 g, 2,90 mmol, 1 equiv) y carbonato de potasio (0,60 g, 4,36 mmol, 1,5 equiv) en DMF anhidro (10 mL) se le agregó yoduro de metilo (362 uL, 5,81 mmol, 2,0 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. LC-MS: calculado [M+H]+ 358,06, hallado 358,34.



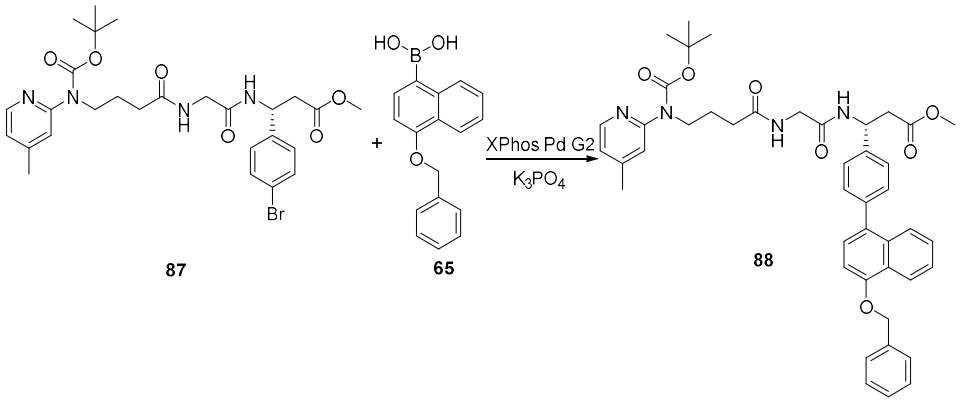
85 86

[0369] El compuesto 85 (1,0 g, 2,791 mmol, 1,0 equiv.) se enfrió por baño de hielo. Se añadió HCl en dioxano (7,0 mL, 27,91 mmol, 10 equiv.) al matraz. La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 258,01, hallado 257,97.



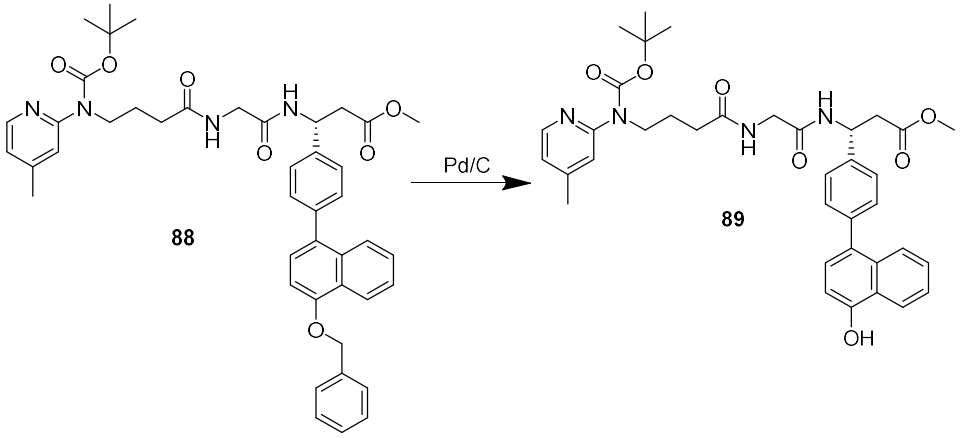
64 86 87

[0370] A una solución de compuesto 64 (790 mg, 2,248 mmol, 1 equiv.), compuesto 86 (728 mg, 2,473 mmol, 1,10 equiv.) y TBTU (866 mg, 2,698 mmol, 1,20 equiv.) en DMF anhidro (15 mL) se le añadió diisopropiletilamina (1,175 mL, 6,744 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 20 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 591,17, hallado 591,49.



87 65 88

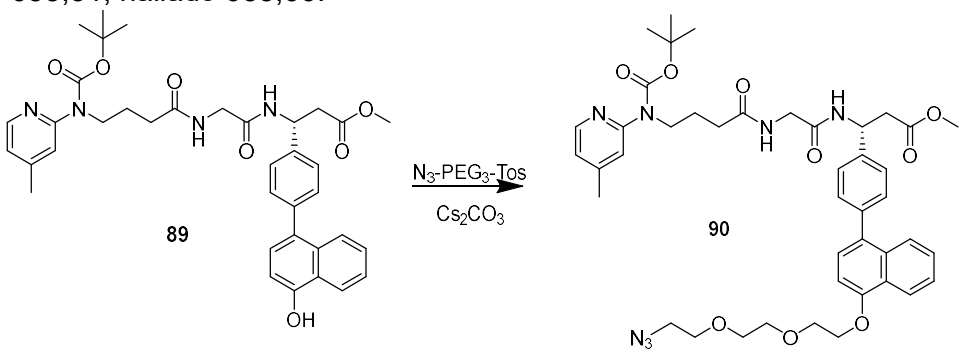
[0371] El compuesto 87 (200 mg, 0,338 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 65 (141 mg, 0,507 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (5,3 mg, 0,068 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (143 mg, 0,676 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (8 mL) y agua (2 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 20 min y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. LC-MS: calculado [M+H]+ 745,35, hallado 746,08.



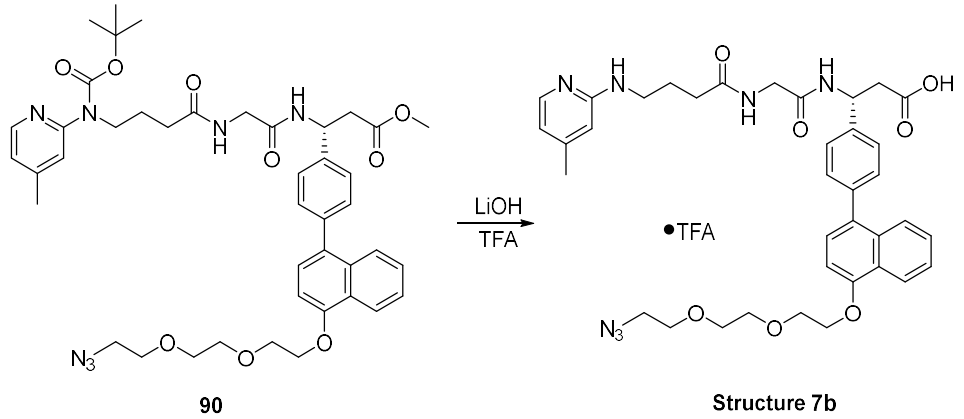
88 89

[0372] A una solución del compuesto 88 (0,247 g, 0,331 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el

producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 655,96.



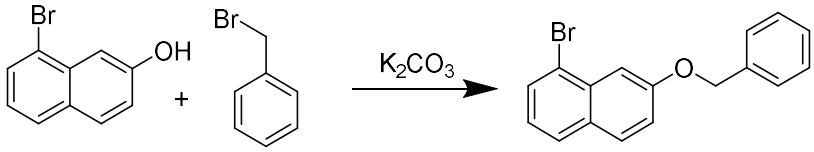
[0373] A una solución de compuesto 89 (50 mg, 0,076 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_3-OT (50 mg, 0,152 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió Cs_2CO_3 (50 mg, 0,152 mmol, 2 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 72 horas a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con MeOH al 4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 812,39, hallado 813,14.



[0374] A una solución del compuesto 90 (36 mg, 0,0443 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (3 mg, 0,133 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre

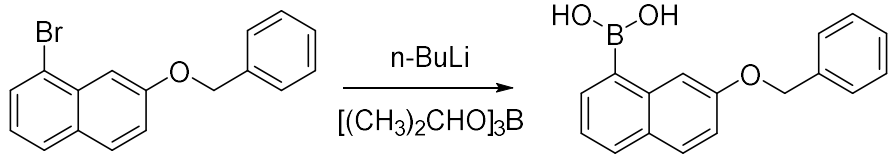
Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (0,5 mL) y DCM (0,5 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 698,32, hallado 698,90.

Síntesis de la Estructura 8b ácido ((S)-3-(4-(7-(2-(2-(2-azidoetoxi)etoxi)etoxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico)



92 62 93

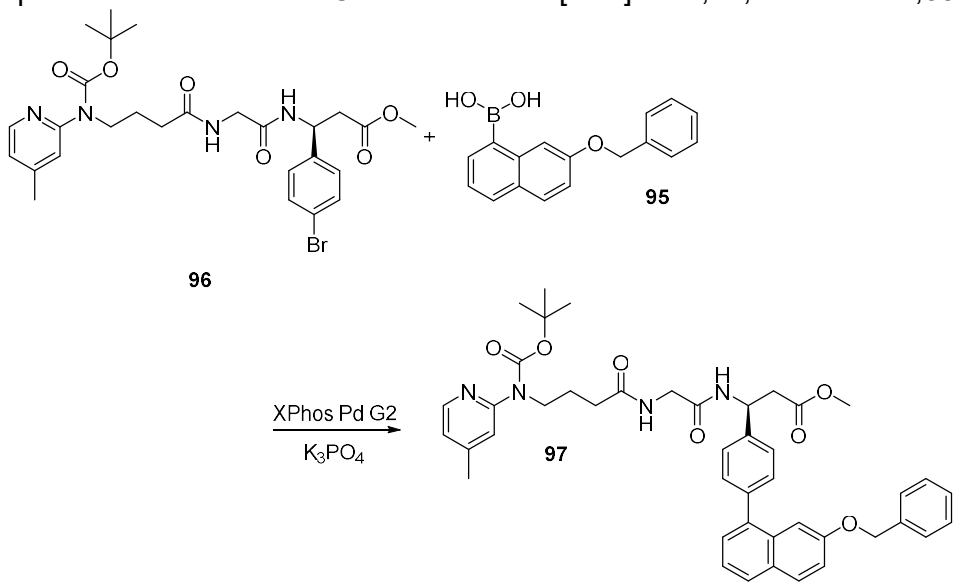
[0375] A una solución de compuesto 92 (1,0 g, 4,48 mmol, 1 equiv.) y compuesto 62 (1,06 mL, 8,96 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le agregó K_2CO_3 (1,24 g, 8,96 mmol, 2 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción agitó a 80 °C durante la noche. La reacción se inactivó con solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo en hexano al 5%.



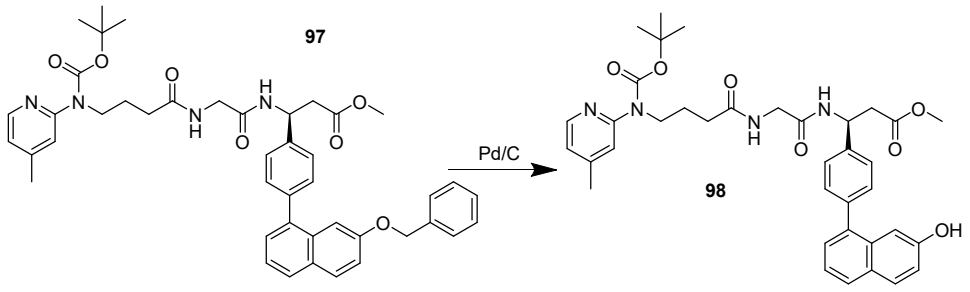
94 95

[0376] A una solución de compuesto 94 (0,5 g, 1,596 mmol, 1,0 equiv.) en THF anhidro (10 mL) se le añadió n-BuLi en hexano (0,96 mL, 2,394 mmol, 1,5 equiv.) gota a gota a -78 °C. La reacción se mantuvo a -78 °C durante otra hora. Luego se añadió borato de triisopropilo (0,553 mL, 2,394 mmol, 1,5 equiv.) a la mezcla a -78 °C. La reacción se calentó luego hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada

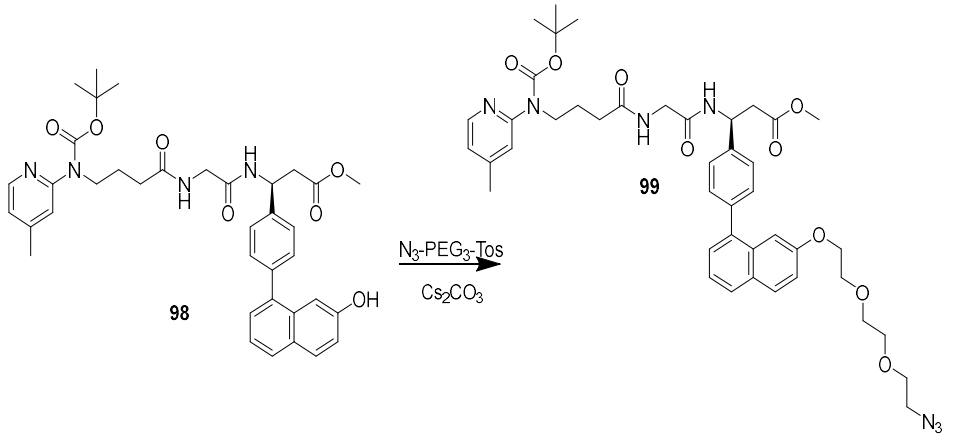
de NH^4Cl (20 mL) y el pH se ajustó a 3. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El sólido se trituró con hexano y se filtró. El producto se utilizó directamente sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M-H]- 277,11, hallado 277,35.



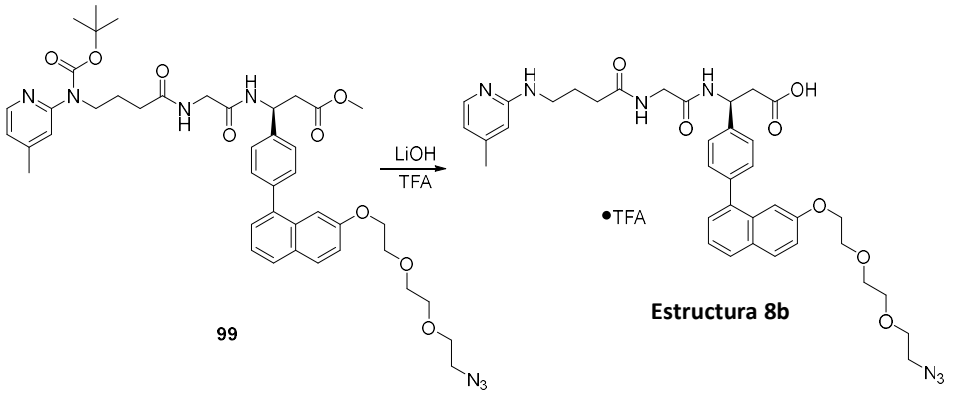
[0377] El compuesto 96 (100 mg, 0,169 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 95 (70 mg, 0,253 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (2,7 mg, 0,0034 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (72 mg, 0,338 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (8 mL) y agua (2 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 20 min y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3% en DCM.



[0378]A una solución del compuesto 97 (0,116 g, 0,157 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 655,87.



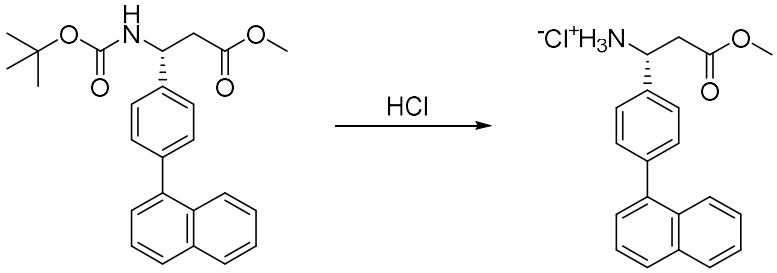
[0379]A una solución de compuesto 98 (87 mg, 0,133 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_3-OTs (87 mg 0,266 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (87 mg, 0,266 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 6 horas. La reacción se inactivó con solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con MeOH al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 812,39, hallado 813,05.



99 Estructura 8b

[0380] A una solución del compuesto 99 (65 mg, 0,0801 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (6 mg, 0,240 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (0,5 mL) y DCM (0,5 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 698,32, hallado 698,99.

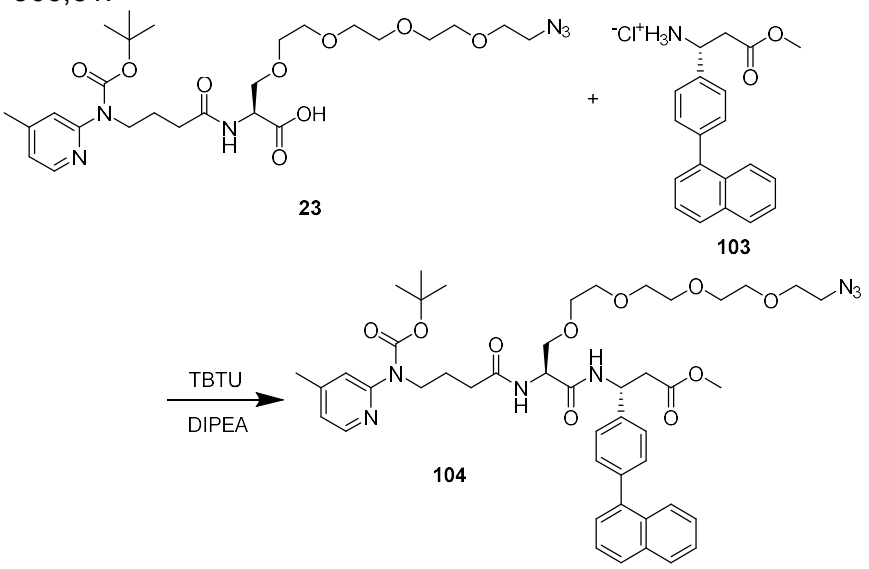
Síntesis de la estructura 9b ácido ((14S,17R)-1-azido-14-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)-17-(4-(naftalen-1-il)fenil)-15-oxo-3,6,9,12-tetraoxa-16-azanonadecan-19-oico).



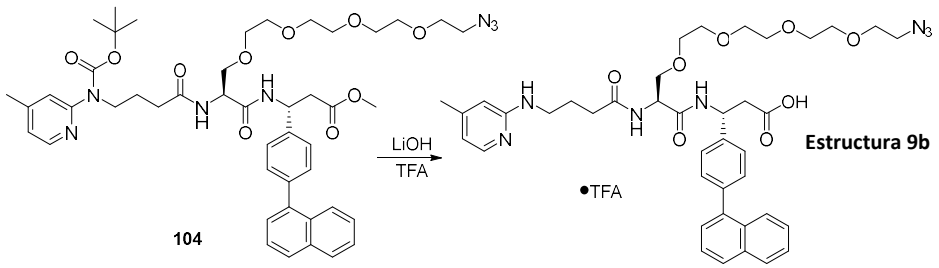
102 103

[0381] El compuesto 102 (0,19 g, 0,468 mmol, 1,0 equiv.) se enfrió por baño de hielo. Se añadió HCl en dioxano (2,35 mL, 9,37 mmol, 20 equiv.) al matraz. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y el producto se

usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 306,14, hallado 306,51.



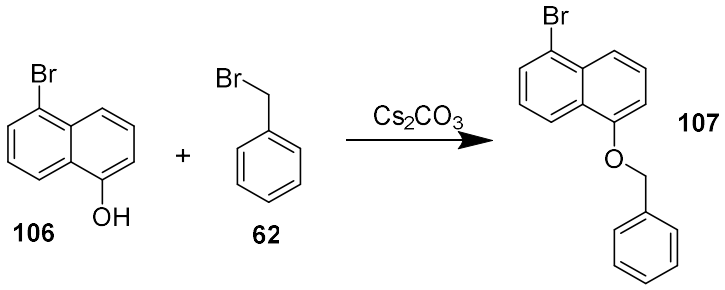
[0382]A una solución de compuesto 23 (110 mg, 0,188 mmol, 1 equiv.), compuesto 103 (71 mg, 0,207 mmol, 1,10 equiv.) y TBTU (72,7 mg, 0,226 mmol, 1,20 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,1 mL, 0,566 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 870,43, hallado 871,12.



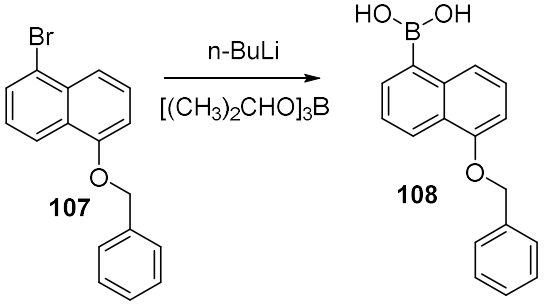
[0383]A una solución del compuesto 104 (110 mg, 0,126 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (9 mg,

0,379 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 756,36, hallado 756,88.

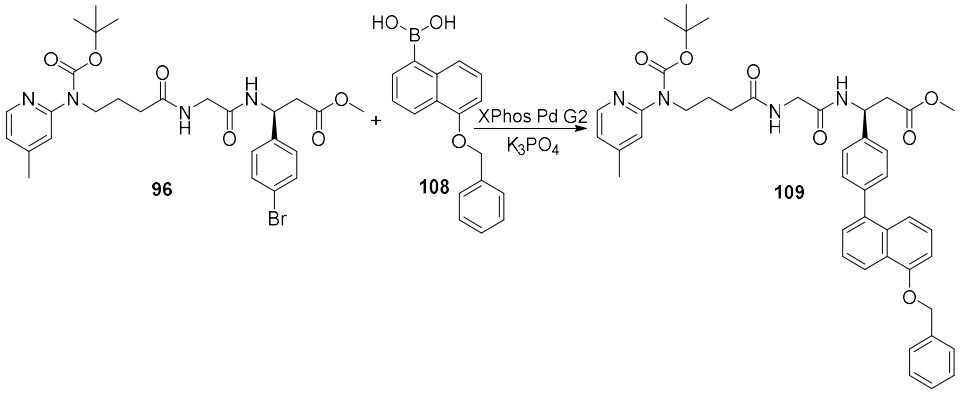
Síntesis de Estructura 10b ácido ((S)-3-(4-(5-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



[0384]A una solución de compuesto 106 (1,0 g, 4,48 mmol, 1 equiv.) y compuesto 62 (1,06 mL, 8,96 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (2,92 g, 8,96 mmol, 2 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó con una solución de agua (20 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo en hexano al 5%.

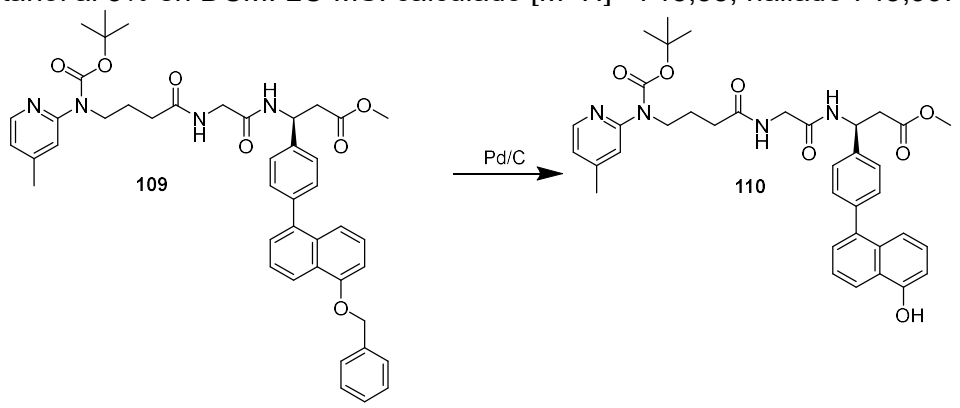


[0385] A una solución de compuesto 107 (1,188 g, 3,793 mmol, 1,0 equiv.) en THF anhidro (10 mL) se le añadió n-BuLi en hexano (2,27 mL, 5,689 mmol, 1,5 equiv.) gota a gota a -78 °C. La reacción se mantuvo a -78 °C durante otra hora. Luego se añadió borato de triisopropilo (1,31 mL, 5,689 mmol, 1,5 equiv.) a la mezcla a -78 °C. La reacción se calentó luego hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de NH^4Cl (20 mL) y el pH se ajustó a 3. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El sólido se trituró con hexano y se filtró. El producto se utilizó directamente sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M-H]- 277,11, hallado 277,26.

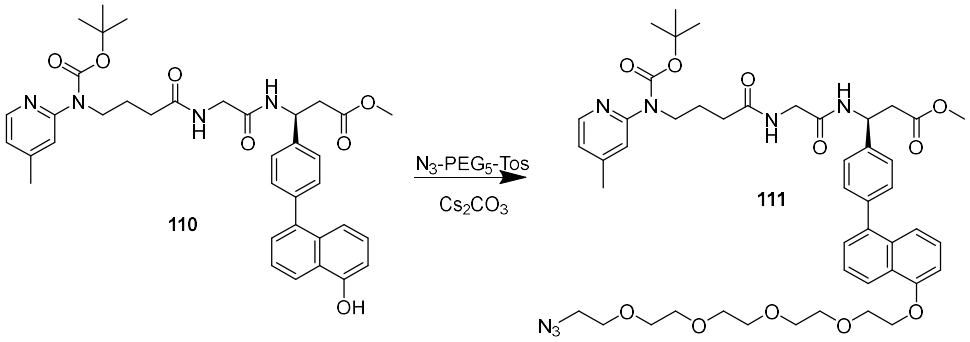


[0386] El compuesto 96 (100 mg, 0,169 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 108 (70 mg, 0,253 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (2,7 mg, 0,0034 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (72 mg, 0,338 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (8 mL) y agua (2 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 20 min y la reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó

mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 745,35, hallado 745,99.

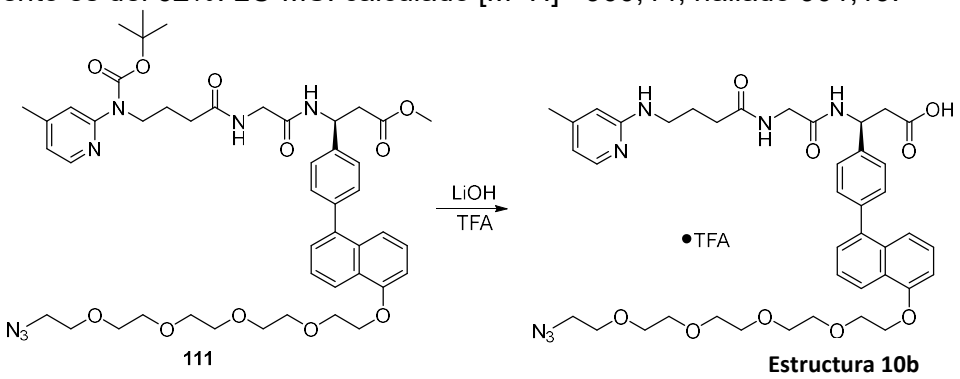


[0387] A una solución del compuesto 109 (0,135 g, 0,181 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 655,87.



[0388] A una solución de compuesto 110 (50 mg, 0,0764 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (64 mg 0,152 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (50 mg, 0,152 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de

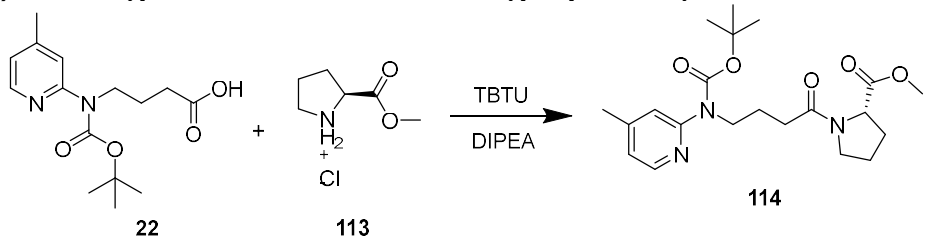
sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. El rendimiento es del 62%. LC-MS: calculado [M+H]+ 900,44, hallado 901,19.



111 Estructura 10b

[0389]A una solución del compuesto 111 (43 mg, 0,0478 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (3,4 mg, 0,143 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 786,37, hallado 787,04.

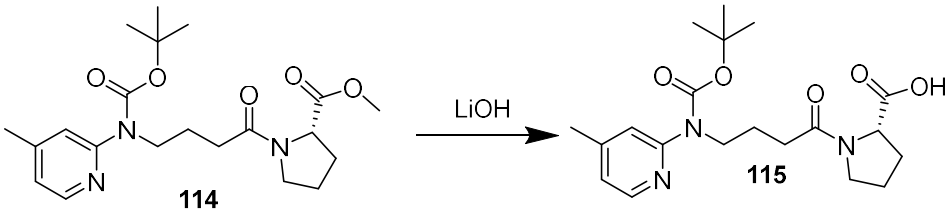
Síntesis de la Estructura 11b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((S)-1-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanoil)pirrolidina-2-carboxamido)propanoico).



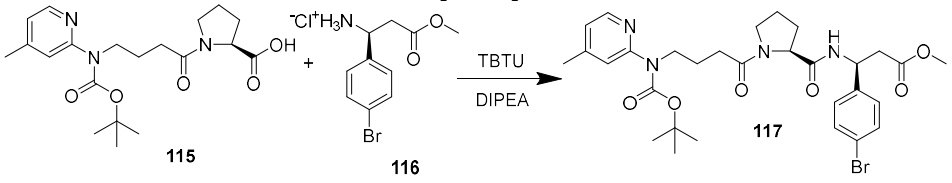
22 113 114

[0390]A una solución de compuesto 22 (500 mg, 1,698 mmol, 1 equiv.), compuesto 113 (295 mg, 1,783 mmol, 1,05 equiv.) y TBTU (654 mg, 2,038 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió

diisopropiletilamina (0,888 mL, 5,096 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. El rendimiento es del 98,72%. LC-MS: calculado [M+H]+ 406,23, hallado 406,07.

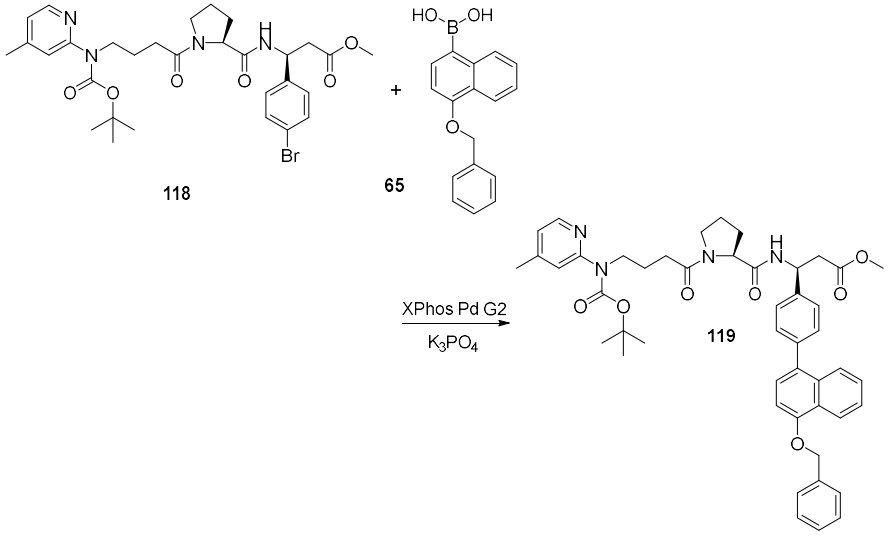


[0391]A una solución del compuesto 114 (0,68 g, 1,676 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio (0,12 g, 5,030 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 392,21, hallado 392,39.

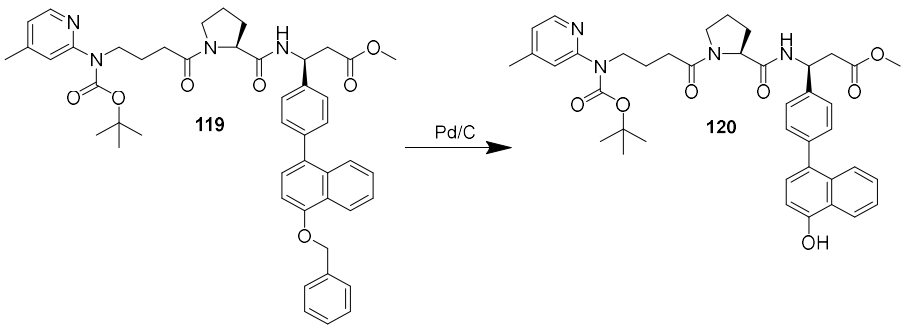


[0392]A una solución de compuesto 115 (300 mg, 0,766 mmol, 1 equiv.), compuesto 116 (237 mg, 0,804 mmol, 1,05 equiv.) y TBTU (295 mg, 0,919 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,400 mL, 2,299 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el

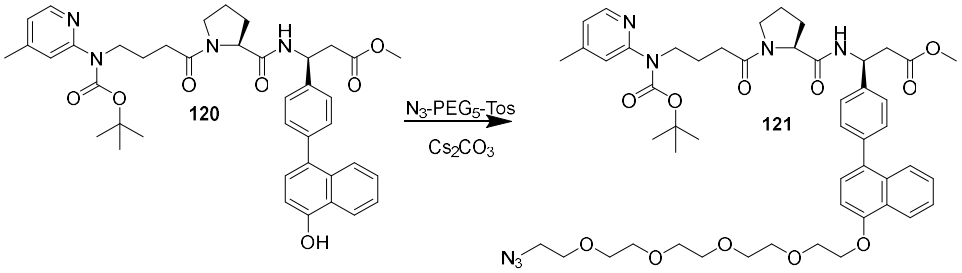
producto se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. El rendimiento es del 83%. LC-MS: calculado [M+H]+ 631,21, hallado 631,46.



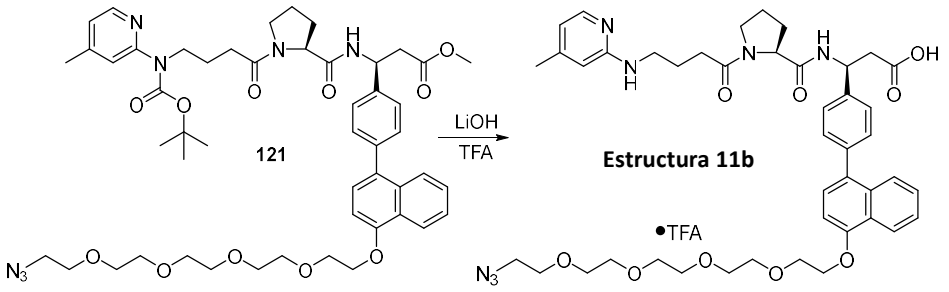
[0393] El compuesto 118 (100 mg, 0,158 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 65 (66 mg, 0,237 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (2,5 mg, 0,0032 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (67 mg, 0,316 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 20 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 1 hora. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3% en DCM. El rendimiento fue del 96%. LC-MS: calculado [M+H]+ 785,38, hallado 785,69.



[0394] A una solución del compuesto 119 (0,120 g, 0,153 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 695,34, hallado 695,66.

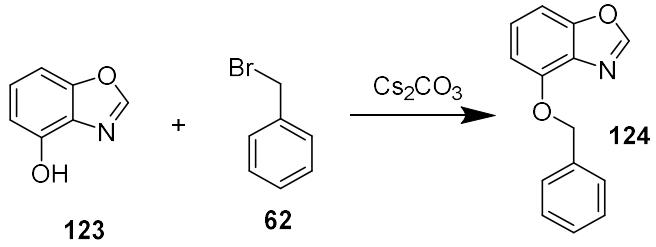


[0395] A una solución de compuesto 120 (83 mg, 0,119 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OTs (100 mg 0,239 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (78 mg, 0,239 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. El rendimiento fue del 79%. LC-MS: calculado 940,47, hallado 941,16.



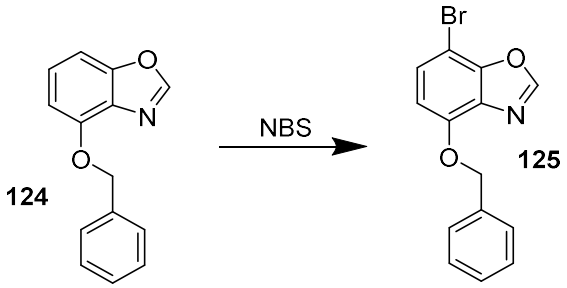
[0396]A una solución del compuesto 121 (89 mg, 0,0947 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (6,8 mg, 0,284 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 826,41, hallado 827,10.

Síntesis de Estructura 12b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)benzo[d]oxazol-7-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).

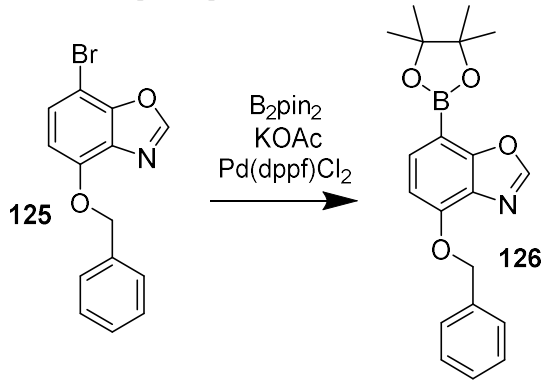


[0397]A una solución de compuesto 123 (1,0 g, 7,40 mmol, 1 equiv.), y compuesto 62 (1,32 mL, 11,10 mmol, 1,5 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió Cs_2CO_3 (3,62 g, 11,10 mmol, 1,5 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La reacción se inactivó con agua (10 mL). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo al 5-7% en hexano. 85% de rendimiento.

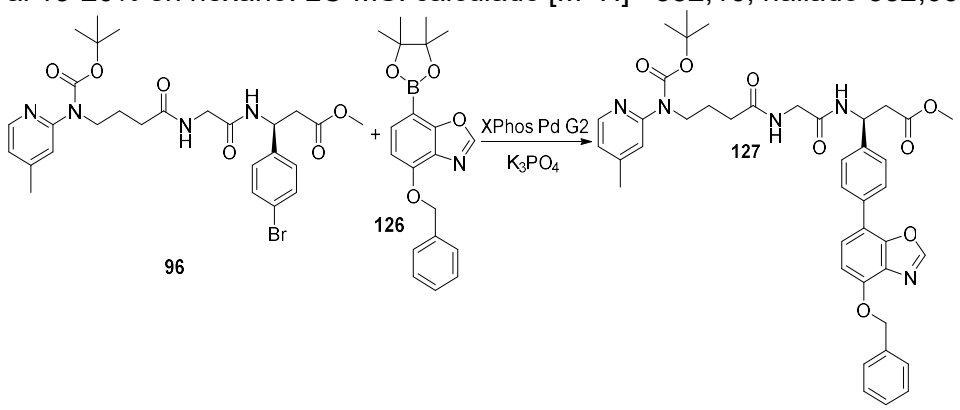


[0398] A una solución del compuesto 124 (1,425 g, 6,326 mmol, 1 equiv.) en acetonitrilo anhidro (20 mL) se le añadió N-bromosuccinimida (1,216 g, 6,832 mmol, 1,08 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se mantuvo a 0 °C durante otros 30 min y luego se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. El solvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. El producto se eluyó con acetato de etilo al 4-5% en hexano. 65% de rendimiento. LC-MS: calculado [M+H]+ 303,99, hallado 304,08.

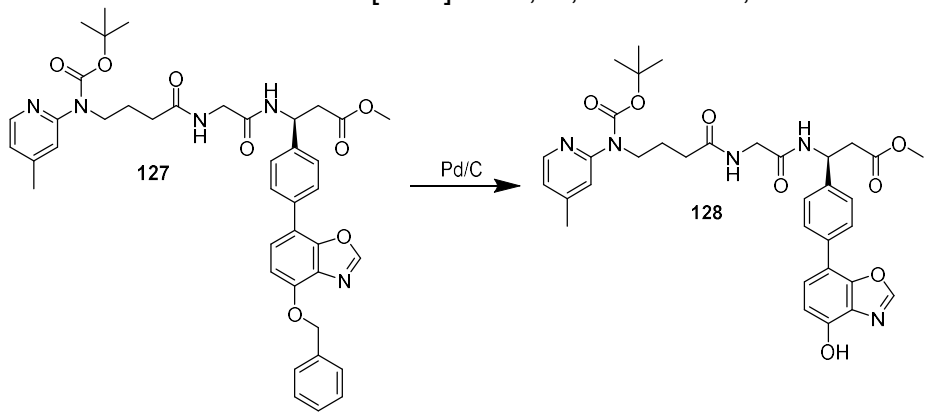


[0399] La mezcla del compuesto 125 (1,339 g, 4,402 mmol, 1 equiv.), bis(pinacolato)diboron (2,236 g, 8,805 mmol, 2 equiv.), acetato de potasio (0,864 g, 8,805 mmol, 2 equiv.) y Pd (dppf)Cl_2 (161 mg, 0,220 mmol, 0,05 equiv.) en 15 mL de 1,4-dioxano anhidro se agitó a 100 °C bajo nitrógeno durante 8 horas. Después de la concentración, el residuo se repartió entre H_2O y DCM, la fase acuosa se extrajo con DCM y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante

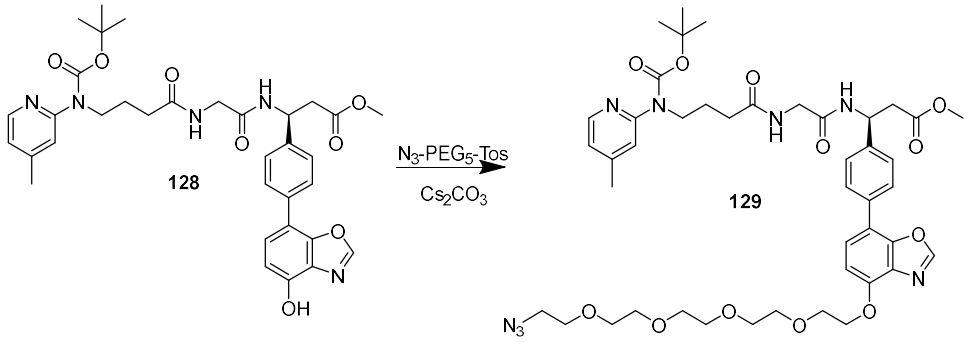
CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo al 15-20% en hexano. LC-MS: calculado [M+H]+ 352,16, hallado 352,06.



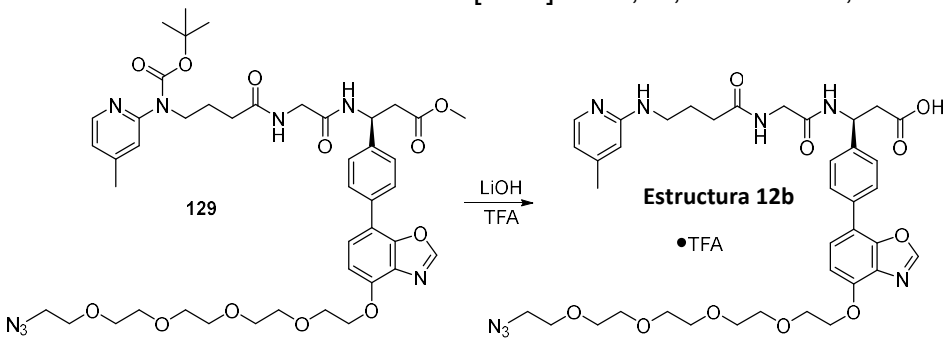
[0400] El compuesto 96 (200 mg, 0,338 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 126 (178 mg, 0,507 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (5,3 mg, 0,0068 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (143 mg, 0,676 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 20 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 1 hora. La reacción se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 736,33, hallado 736,89.



[0401] A una solución del compuesto 127 (0,219 g, 0,297 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 646,28, hallado 646,78.



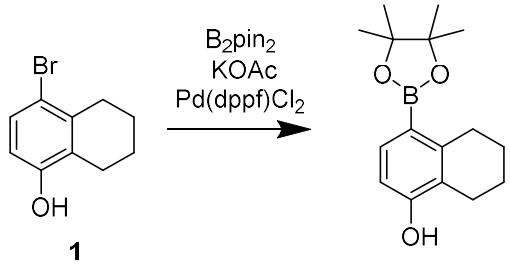
[0402] A una solución de compuesto 128 (73 mg, 0,113 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OTs (94 mg 0,226 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (74 mg, 0,226 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. El rendimiento es del 80%. LC-MS: calculado [M+H]+ 891,42, hallado 892,00.



[0403] A una solución del compuesto 129 (43 mg, 0,0478 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (3,4 mg,

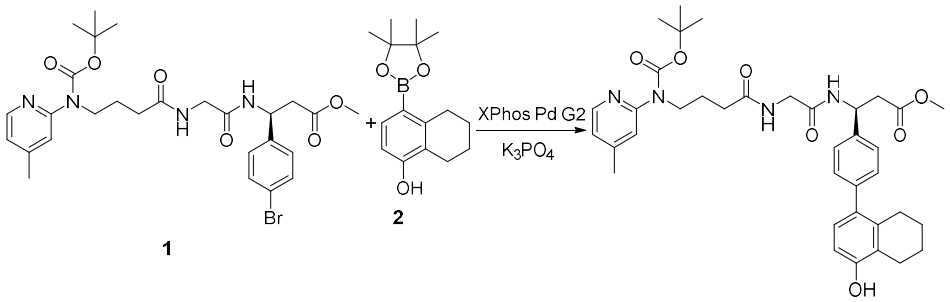
0,143 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 777,35, hallado 777,94.

Síntesis de Estructura 13b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)-5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



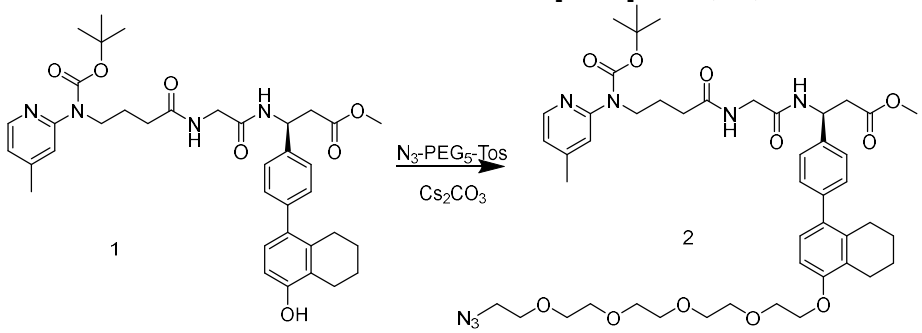
1

[0404]La mezcla del compuesto 1 (300 mg, 1,321 mmol, 1 equiv.), bis(pinacolato)diboron (671 mg, 2,642 mmol, 2 equiv.), acetato de potasio (389 mg, 3,963 mmol, 2 equiv.) y Pd (dppf)Cl_2 (48 mg, 0,066 mmol, 0,05 equiv.) en 10 mL de 1,4-dioxano anhidro se agitó a 80 °C bajo nitrógeno durante la noche. Después de la concentración, el residuo se repartió entre H_2O y DCM, la fase acuosa se extrajo con DCM y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo al 10% en hexano. LC-MS: calculado [M-H]- 273,17, hallado 273,29.



1 2

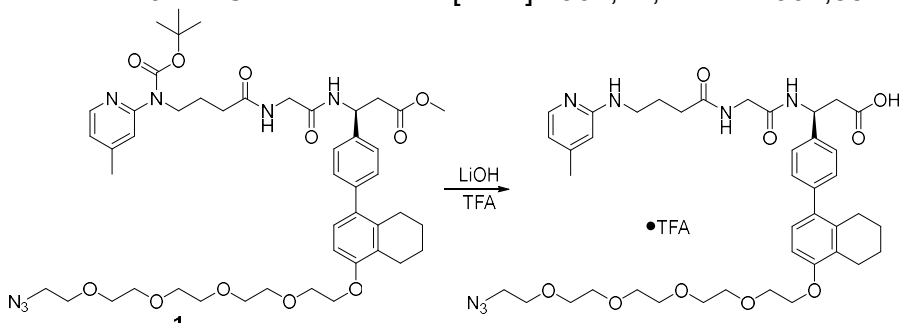
[0405] El compuesto 1 (100 mg, 0,169 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (70 mg, 0,253 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (2,7 mg, 0,0034 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (72 mg, 0,338 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 20 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 3 hora. Luego, la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se dejó reposar durante la noche. La reacción se inactivó con $NaHCO_3$ saturado (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-5% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 659,34, hallado 659,57.



1 2

[0406] A una solución de compuesto 1 (30 mg, 0,0455 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OTs (38 mg 0,0911 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (30 mg, 0,0911 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con

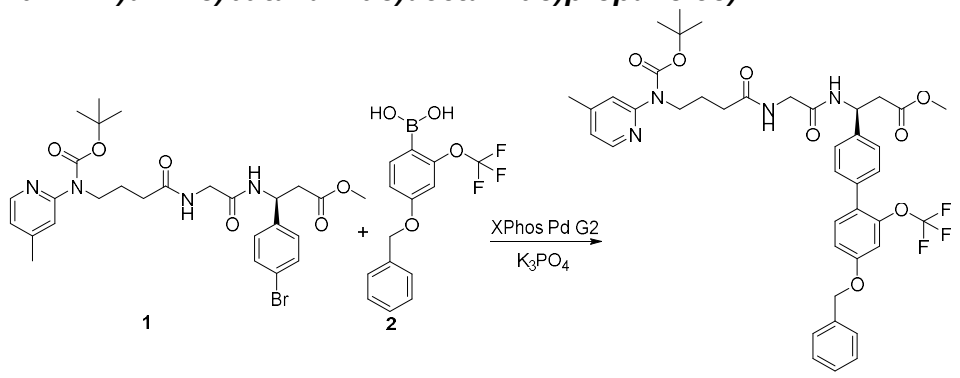
acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. El rendimiento es del 70%. LC-MS: calculado [M+H]+ 904,47, hallado 904,88.



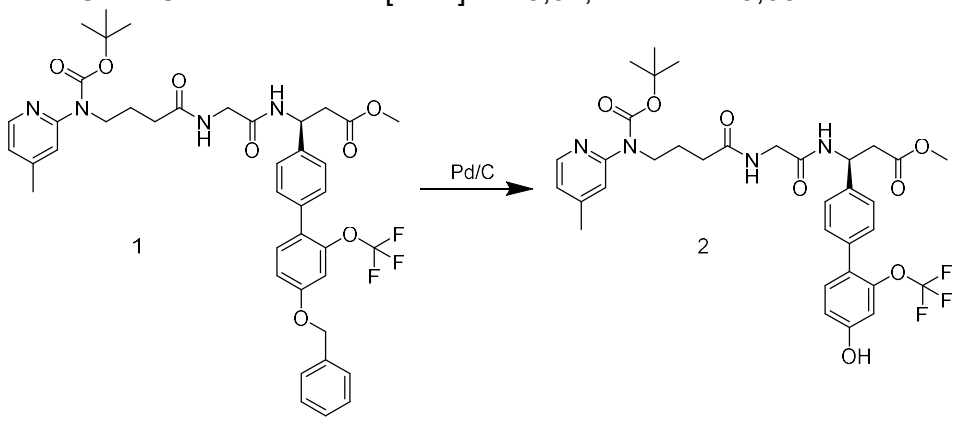
Estructura 13b

[0407]A una solución del compuesto 1 (29 mg, 0,0321 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (2,3 mg, 0,0962 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadió TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 790,41, hallado 790,64.

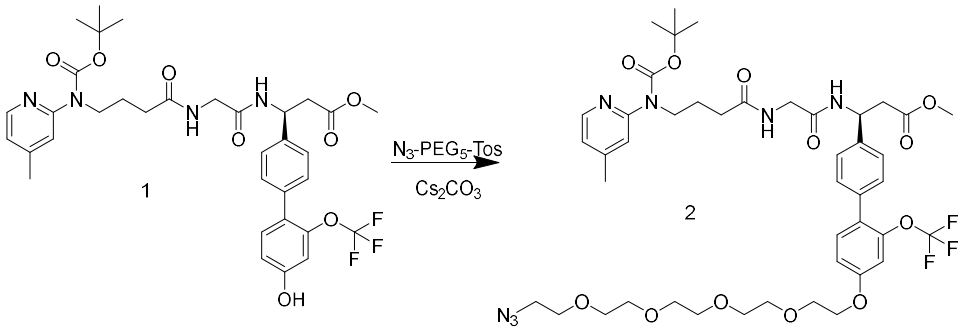
Síntesis de Estructura 14b ácido ((S)-3-(4'-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)-2'-(trifluorometoxi)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



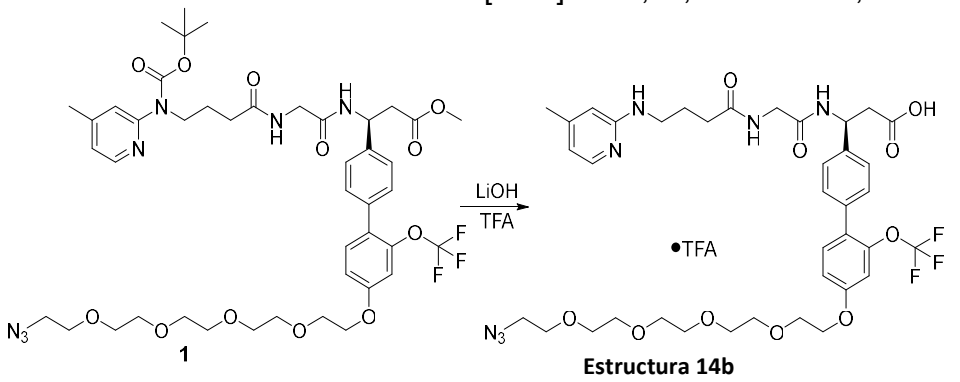
[0408] El compuesto 1 (150 mg, 0,253 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (118 mg, 0,380 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (4 mg, 0,0051 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (107 mg, 0,507 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante la noche. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 779,32, hallado 779,65.



[0409] A una solución del compuesto 1 (0,19 g, 0,244 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La reacción se evacuó y se rellenó con hidrógeno (este proceso se repitió 3 veces). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 689,27, hallado 689,54.



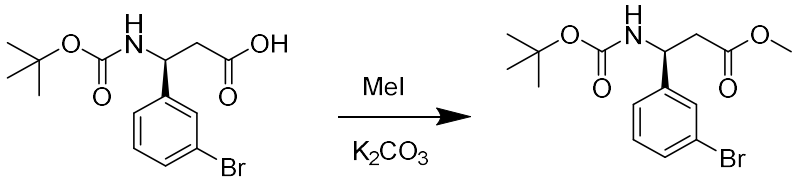
[0410]A una solución de compuesto 1 (80 mg, 0,116 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OTs (97 mg 0,232 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (76 mg, 0,232 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. El rendimiento fue del 82%. LC-MS: calculado [M+H]+ 934,41, hallado 935,04.



[0411]A una solución del compuesto 1 (90 mg, 0,0964 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (7 mg, 0,289 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se

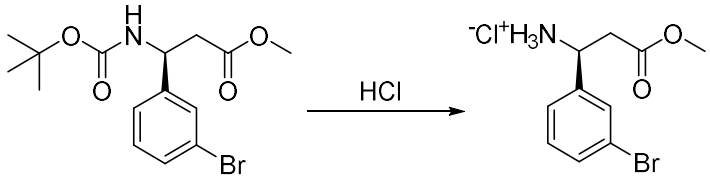
eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 820,34, hallado 820,89.

Síntesis de Estructura 15b ácido ((S)-3-(3-(5-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



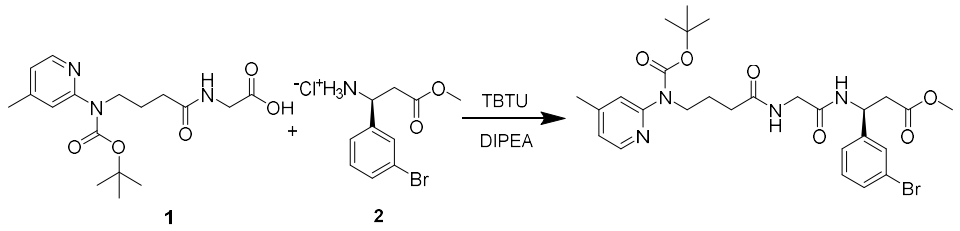
1

[0412]A una solución de compuesto 1 (1,0 g, 2,90 mmol, 1 equiv) y carbonato de potasio (0,60 g, 4,36 mmol, 1,5 equiv) en DMF anhidro (10 mL) se le agregó yoduro de metilo (362 uL, 5,81 mmol, 2,0 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego, la reacción se inactivó con agua (20 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo en hexano al 15%. LC-MS: calculado [M+H]+ 358,06, hallado 358,18.



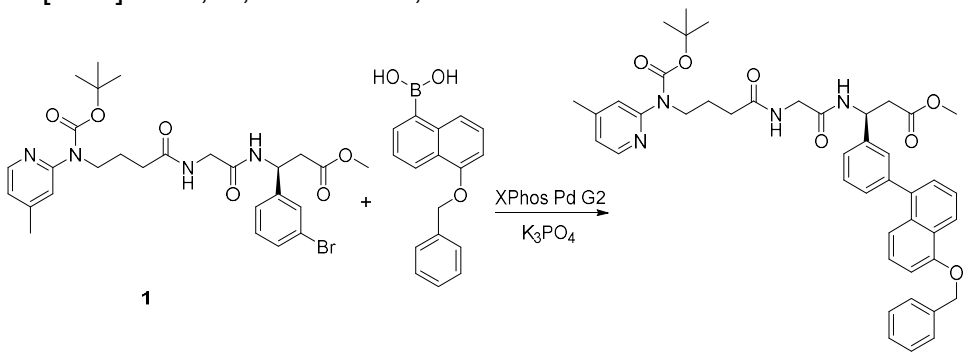
1

[0413]El compuesto 1 (858 mg, 1,677 mmol, 1,0 equiv.) se enfrió por baño de hielo. Se añadió HCl en dioxano (8,4 mL, 33,54 mmol, 20 equiv.) al matraz. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 258,01, hallado 258,08.



1 2

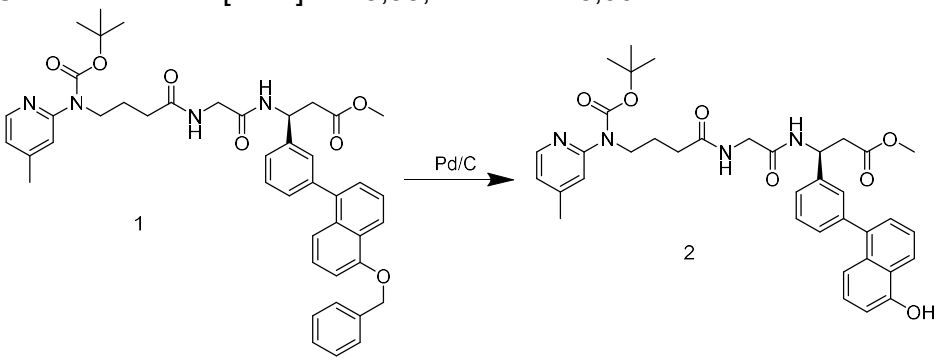
[0414] A una solución de compuesto 1 (640 mg, 1,821 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (590 mg, 2,003 mmol, 1,10 equiv.) y TBTU (702 mg, 2,185 mmol, 1,20 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,952 mL, 5,464 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 591,17, hallado 591,40.



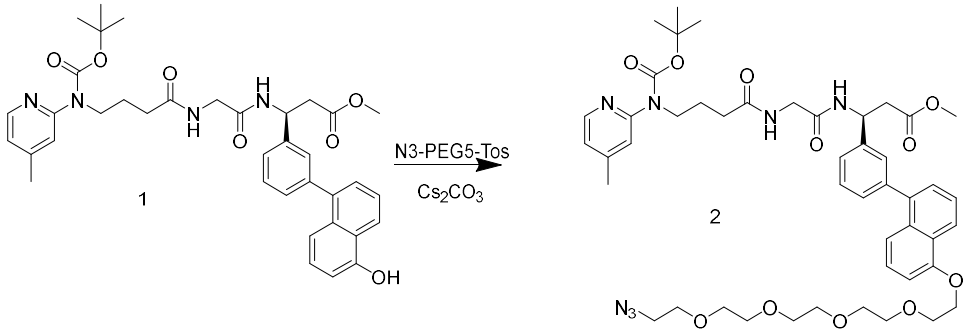
1

[0415] El compuesto 1 (150 mg, 0,253 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (106 mg, 0,380 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (4 mg, 0,0051 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (107 mg, 0,507 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó

sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 745,35, hallado 745,99.

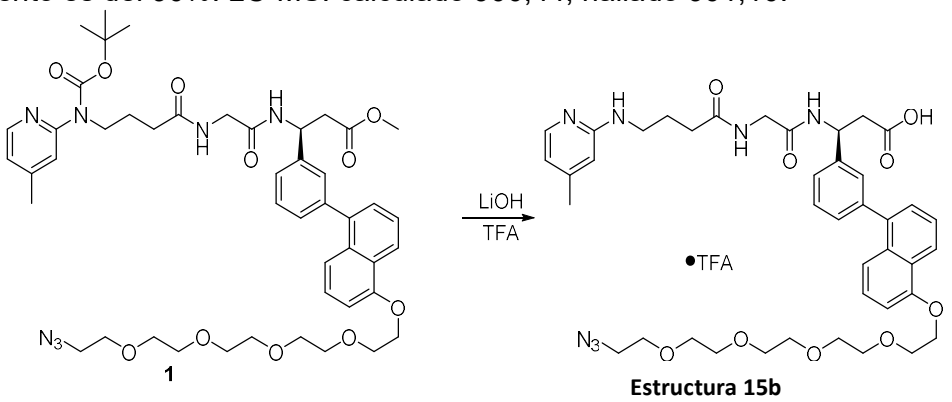


[0416] A una solución del compuesto 1 (0,189 g, 0,253 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La reacción se evacuó y se rellenó con hidrógeno (este proceso se repitió 3 veces). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 655,42.



[0417] A una solución de compuesto 1 (80 mg, 0,122 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OTs (102 mg 0,244 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (80 mg, 0,244 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de

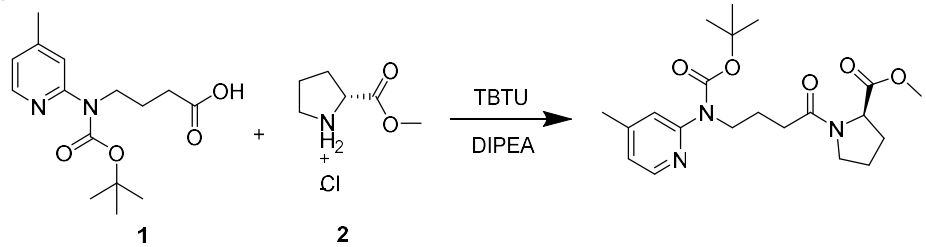
sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 1-2% en DCM. El rendimiento es del 90%. LC-MS: calculado 900,44, hallado 901,10.



1 Estructura 15b

[0418] A una solución del compuesto 1 (100 mg, 0,111 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (8 mg, 0,333 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 786,37, hallado 786,95.

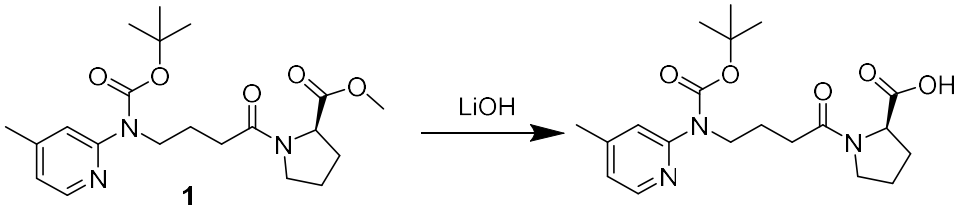
Síntesis de la Estructura 16b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((R)-1-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanoil)pirrolidina-2-carboxamido)propanoico).



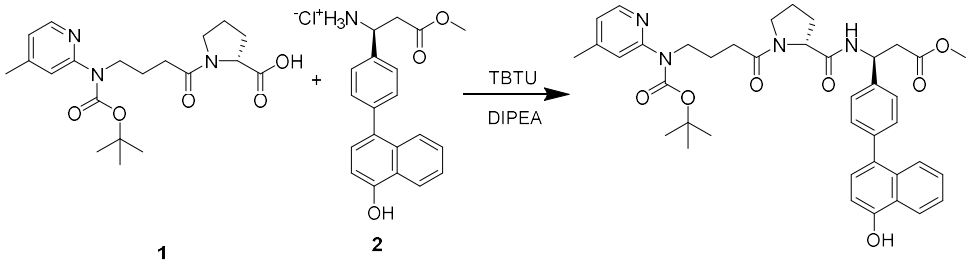
1 2

[0419] A una solución de compuesto 1 (500 mg, 1,698 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (295 mg, 1,783 mmol, 1,05 equiv.) y TBTU (654 mg, 2,038 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,888 mL,

5,096 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. El rendimiento es del 98,43%. LC-MS: calculado [M+H]+ 406,23, hallado 406,34.

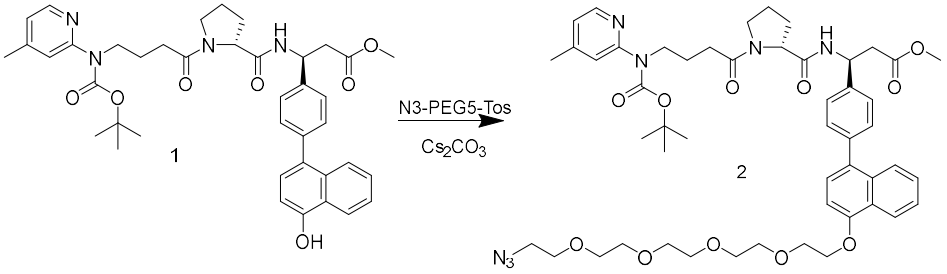


[0420]A una solución del compuesto 1 (0,678 g, 1,672 mmol, 1 equiv.) en THF (10 mL) y H_2O (10 mL) se le añadió hidróxido de litio (0,12 g, 5,016 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 392,21, hallado 392,39.

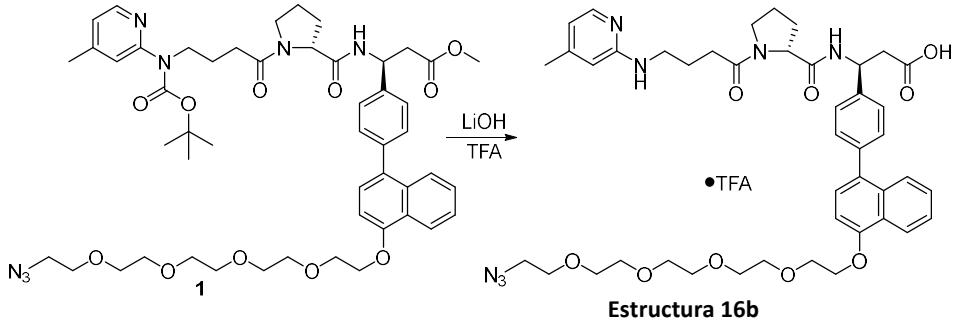


[0421]A una solución de compuesto 1 (130 mg, 0,332 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (125 mg, 0,348 mmol, 1,05 equiv.) y TBTU (128 mg, 0,398 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (5 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,174 mL, 0,996 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con

solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y el producto se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. El rendimiento es del 86%. LC-MS: calculado [M+H]+ 695,34, hallado 695,93.



[0422] A una solución de compuesto 1 (80 mg, 0,115 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (96 mg 0,230 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (75 mg, 0,230 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-5% en DCM. El rendimiento es del 60%.

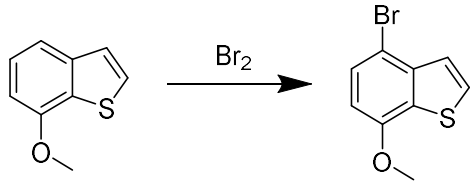


Estructura 16b

[0423] A una solución del compuesto 1 (65 mg, 0,0691 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (5 mg, 0,207 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre

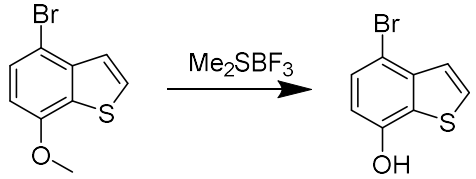
Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 826,41, hallado 827,01.

Síntesis de Estructura 17b ácido ((S)-3-(4-(7-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)benzo[b]thiofen-4-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



1

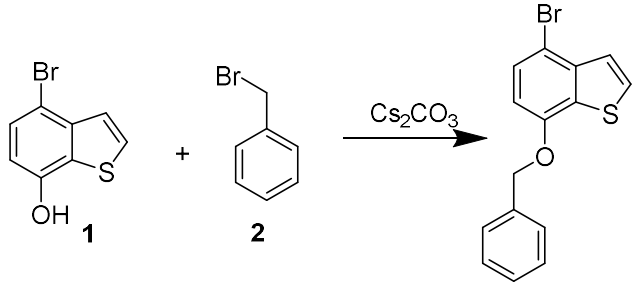
[0424] Se añadió gota a gota una solución de bromo (1,877 g, 11,745 mmol, 1,05 equiv.) en tetraclorometano seco (20 mL) durante 1,5 horas a una solución agitada del compuesto 1 (1,837 g, 11,186 mmol, 1 equiv.) en tetraclorometano (20 mL) a 0 °C. Después de una hora más a 0 °C, la capa orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4, se concentró para dar un residuo, que se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. El producto se eluyó con hexano puro con impurezas.



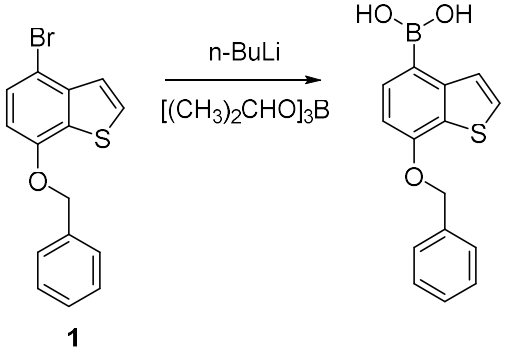
1

[0425] A una solución de diclorometano (20 mL) del compuesto 1 (2,70 g, 11,105 mmol, 1,0 equiv.), bajo atmósfera de nitrógeno, a 0 °C, se le añadió complejo de trifluoruro de boro dimetil sulfuro (3,5 mL, 33,317 mmol, 3,0 equiv.) y se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se inactivó con solución saturada de NH_4Cl (20 mL). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y la fase orgánica se combinó,

se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo en hexano al 5%. LC-MS: calculado [M-H]- 226,92, hallado 227,03.

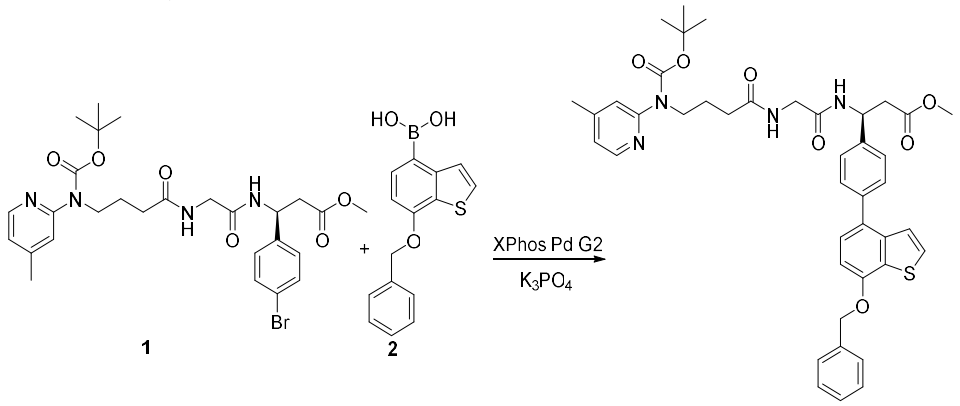


[0426] A una solución de compuesto 1 (1,838 g, 8,023 mmol, 1 equiv.) y compuesto 2 (1,906 mL, 16,04 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (10 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (5,228 g, 16,04 mmol, 2 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se inactivó con agua (20 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo al 2-3% en hexano.



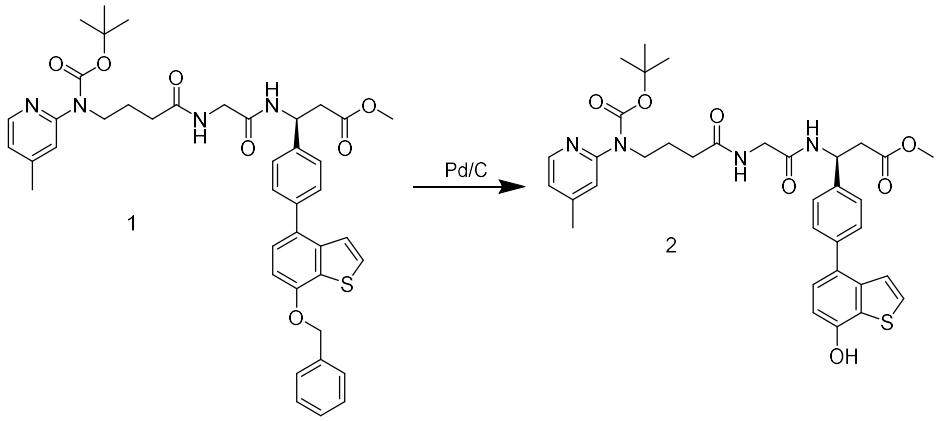
[0427] A una solución de compuesto 1 (2,22 g, 6,954 mmol, 1,0 equiv.) en THF anhidro (20 mL) se le añadió n-BuLi en hexano (4,17 mL, 10,43 mmol, 1,5 equiv.) gota a gota a -78 °C. La reacción se mantuvo a -78 °C durante otra hora. Luego se añadió borato de triisopropilo (2,40 mL, 10,43 mmol, 1,5 equiv.) a la mezcla a -78 °C. La reacción se calentó luego hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de NH^4Cl (20 mL) y el pH se ajustó a 3. La fase acuosa se extrajo con EtOAc

(3 x 20 mL) y la fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-6% en DCM. LC-MS: calculado [M-H]- 283,07, hallado 283,20.

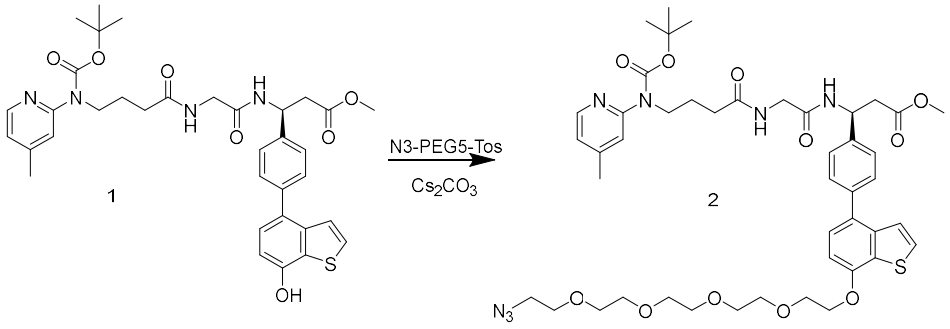


1 2

[0428] El compuesto 1 (400 mg, 0,676 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (288 mg, 1,01 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (10 mg, 0,0135 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (287 mg, 1,352 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (8 mL) y agua (2 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 751,31, hallado 751,84.

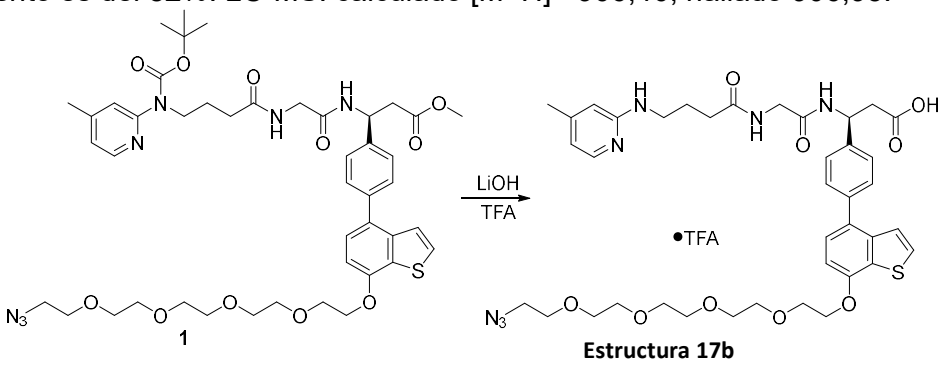


[0429] A una solución del compuesto 1 (0,50 g, 0,666 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (100 mg) a temperatura ambiente. La reacción se evacuó y se rellenó con hidrógeno (este proceso se repitió 3 veces). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El producto se eliminó mediante filtración a través de Celite® y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 5% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 661,26, hallado 661,73.



[0430] A una solución de compuesto 1 (130 mg, 0,196 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (164 mg 0,393 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (128 mg, 0,393 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de

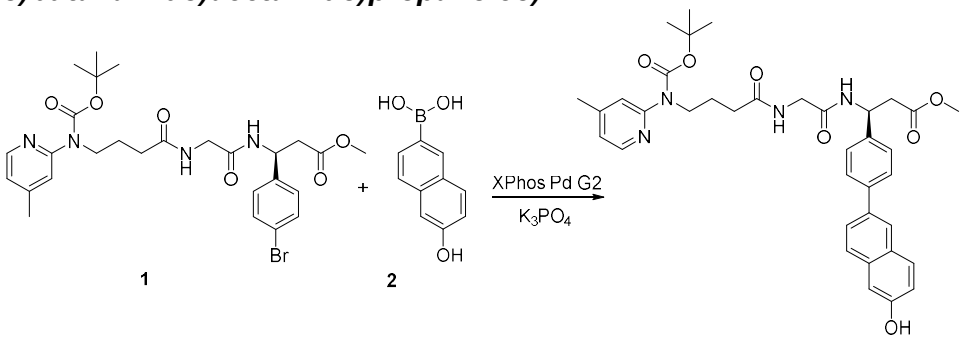
sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. El rendimiento es del 82%. LC-MS: calculado [M+H]+ 906,40, hallado 906,95.



1 Estructura 17b

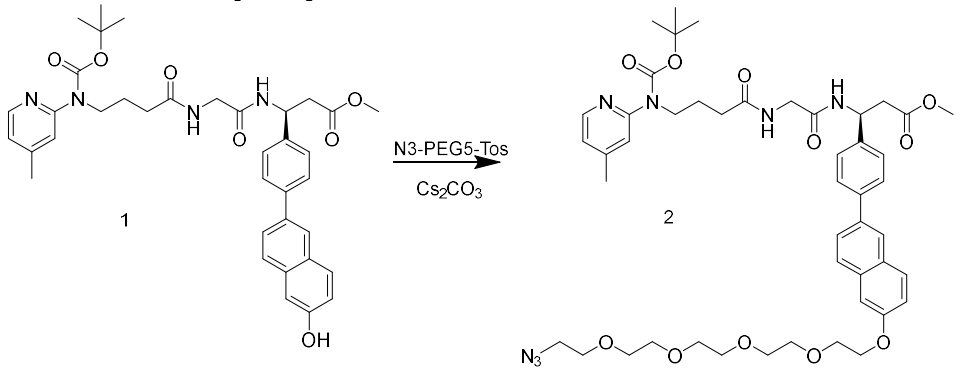
[0431]A una solución del compuesto 1 (147 mg, 0,162 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (12 mg, 0,486 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (2 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. LC-MS: calculado [M+H]+ 792,33, hallado 792,89.

Síntesis de Estructura 18b ácido ((S)-3-(4-(6-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-2-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).

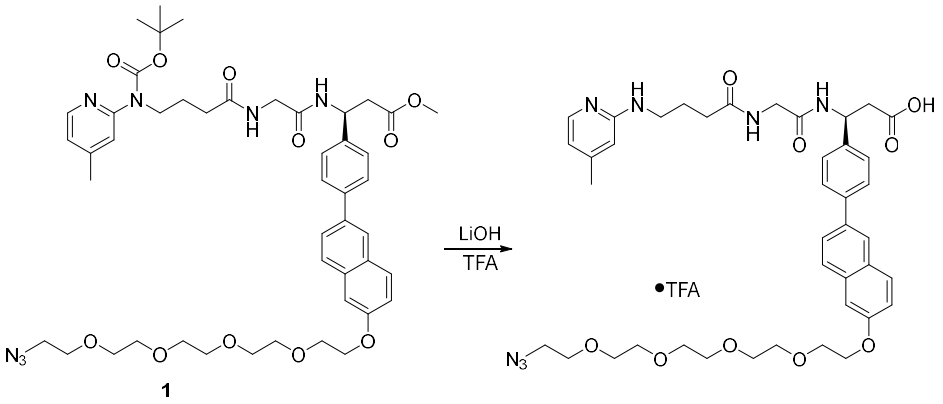


1 2

[0432] El compuesto 1 (150 mg, 0,253 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (71,5 mg, 0,380 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (4 mg, 0,0051 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (107 mg, 0,507 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 655,87.



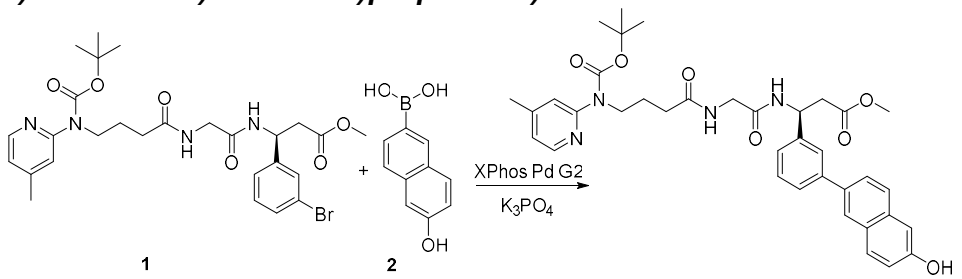
[0433] A una solución de compuesto 1 (160 mg, 0,244 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (204 mg 0,488 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (160 mg, 0,488 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 60 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. El rendimiento fue del 30%. LC-MS: calculado [M+H]+ 900,44, hallado 901,01.



1

[0434] A una solución del compuesto 1 (67 mg, 0,0744 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (5 mg, 0,223 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (2 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 10% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 786,37, hallado 786,86.

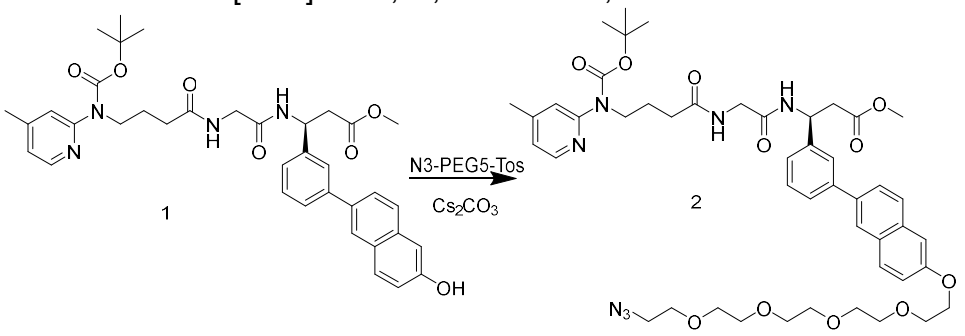
Síntesis de Estructura 19b ácido ((S)-3-(3-(6-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-2-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



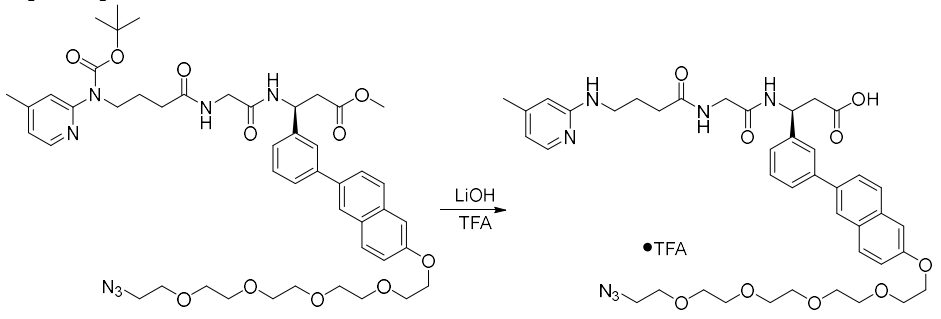
1 2

[0435] El compuesto 1 (150 mg, 0,253 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (71,5 mg, 0,380 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (4 mg, 0,0051 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (107 mg, 0,507 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un

matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 655,78.



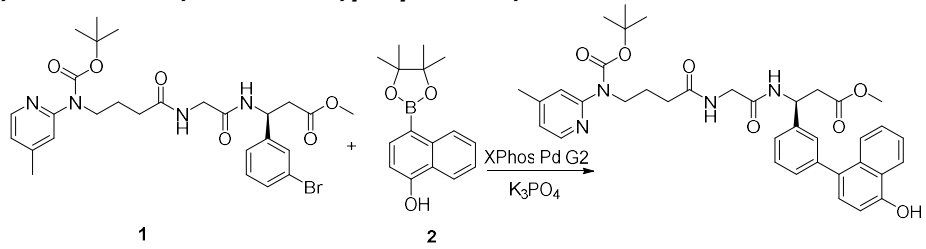
[0436]A una solución de compuesto 1 (104 mg, 0,158 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OTs (132 mg 0,317 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (103 mg, 0,317 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 60 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 900,44, hallado 901,01.



1 **Estructura 19b**

[0437] A una solución del compuesto 1 (125 mg, 0,138 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (10 mg, 0,416 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 12% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 786,37, hallado 786,86.

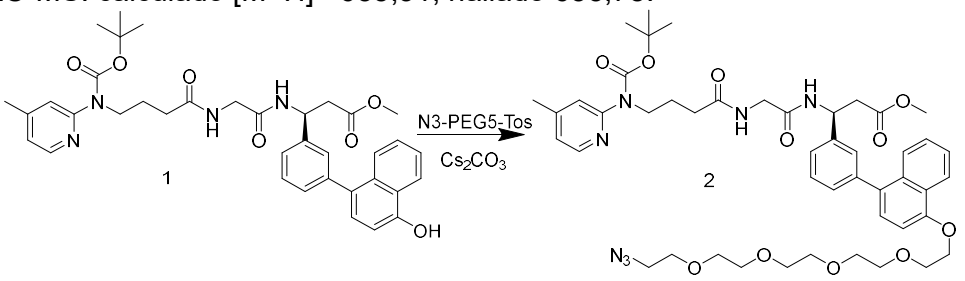
Síntesis de Estructura 20b ácido ((S)-3-(3-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



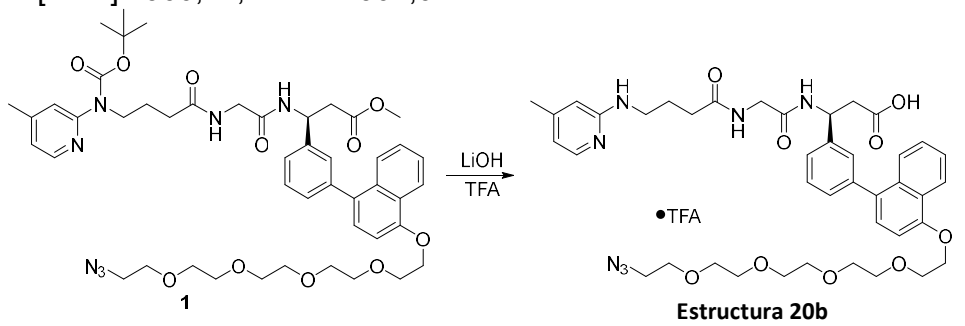
1 2

[0438] El compuesto 1 (150 mg, 0,253 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (102 mg, 0,380 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (4 mg, 0,0051 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (107 mg, 0,507 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash®

usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 655,78.



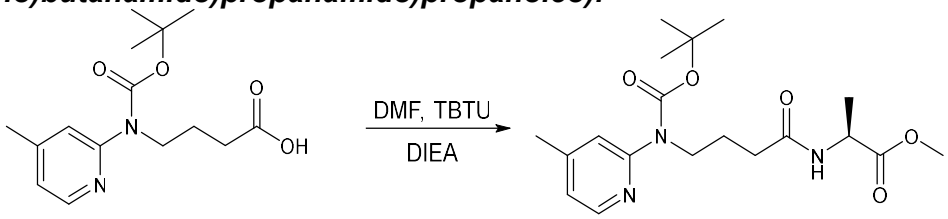
[0439]A una solución de compuesto 1 (160 mg, 0,244 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG_5-OTs (204 mg 0,488 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (159 mg, 0,488 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 60 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 900,44, hallado 901,01.



[0440]A una solución del compuesto 1 (125 mg, 0,138 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (10 mg, 0,416 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash®

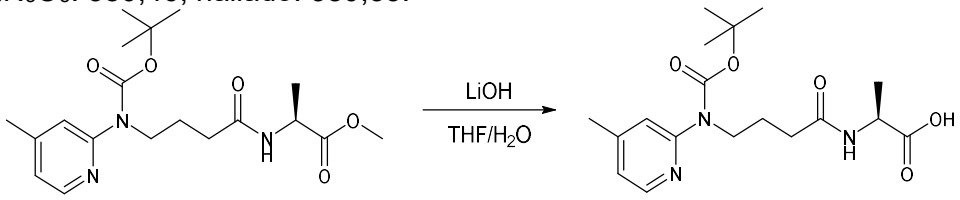
usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 8-12% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 786,37, hallado 786,86.

Síntesis de Estructura 22b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)propanamido)propanoico).



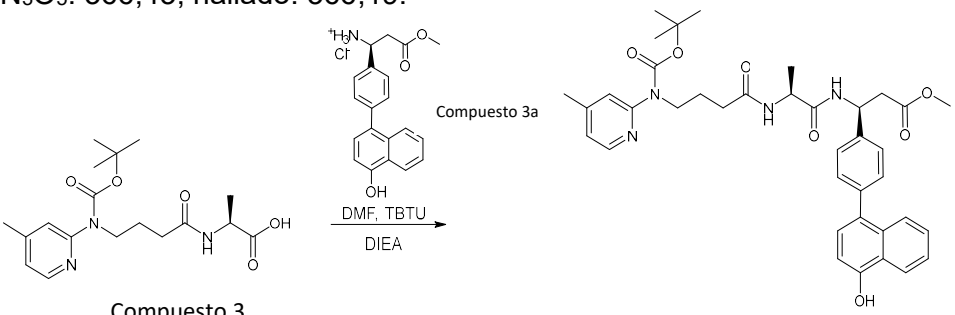
Compuesto 1 Compuesto 2

[0441]A una solución de compuesto 1 (250 mg, 0,85 mmol), sal de hidrocloruro de éster metílico de L-alanina (130 mg, 0,93 mmol) y TBTU (327 mg, 1,02 mmol) en DMF (2 mL) se le añadió DIPEA (329 mg, 444 µL, 2,55 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La reacción se desactivó con solución saturada de NH_4Cl (acuosa) (0,75 mL) y agua desionizada (1 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (3 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 3 mL). La fase orgánica combinada se lavó con solución saturada de $NaHCO_3$ (acuosa) (2 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-5% en DCM. Rendimiento del compuesto 2: 294 mg (91%). [M+H] calculado para $C_{19}H_{29}N_3O_5$: 380,46, hallado: 380,33.



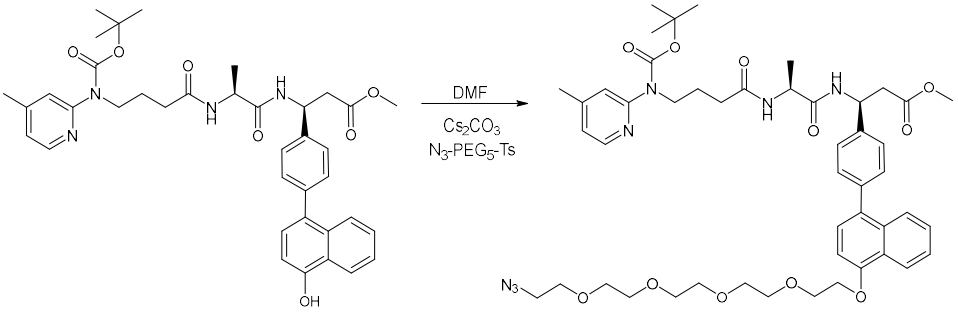
Compuesto 2 Compuesto 3

[0442] A una solución del compuesto 2 (294 mg, 0,77 mmol) en THF (4,5 mL) y agua desionizada (3 mL) a 0 °C se le añadió una solución de hidróxido de litio (56 mg, 2,32 mmol) en agua desionizada (1 mL) La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 40 minutos. La mezcla de reacción se acidificó hasta un pH=3 con HCl 6 M (ac.). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El compuesto 3 se usó sin purificación adicional. Rendimiento del compuesto 3: 267 mg (94%). [M+H] calculado para $C_{18}H_{27}N_3O_5$: 366,43, hallado: 366,19.



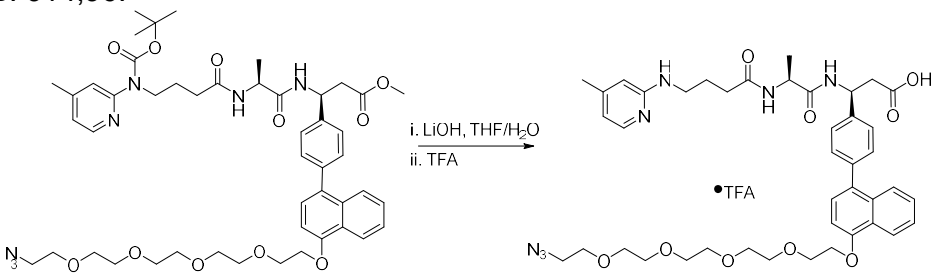
Compuesto 3 Compuesto 4

[0443] A una solución de compuesto 3 (267 mg, 0,73 mmol), compuesto 3a (288 mg, 0,80 mmol) y TBTU (282 mg, 0,88 mmol) en DMF (3 mL) se le añadió DIPEA (283 mg, 382 µL, 2,19 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada. NH_4Cl (acuosa) (1,5 mL) y agua desionizada (1,5 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (12 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 12 mL). La fase orgánica combinada se lavó con media solución saturada de NH_4Cl (acuosa) (10 mL), media solución saturada de $NaHO_3$ (acuosa) (10 mL), media solución saturada de de NaCl (acuosa) (10 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-5% en DCM. Rendimiento del compuesto 4: 342 mg (70%). [M+H] calculado para $C_{38}H_{44}N_4O_7$: 669,79, hallado: 669,74.



Compuesto 4 Compuesto 5

[0444] A una solución de compuesto 4 (150 mg, 0,22 mmol) y azido-PEG_5-OT (187 mg, 0,49 mmol) en DMF anhidro (1,2 mL) se le añadió Cs_2CO_3 (146 mg, 0,49 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada. $NaHCO_3$ (acuosa) (10 mL) y agua desionizada (5 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (7,5 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 7,5 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-4% en DCM. Rendimiento del compuesto 5: 142 mg (69%). [M+H] calculado para $C_{48}H_{63}N_7O_{11}$: 915,06, hallado: 914,96.

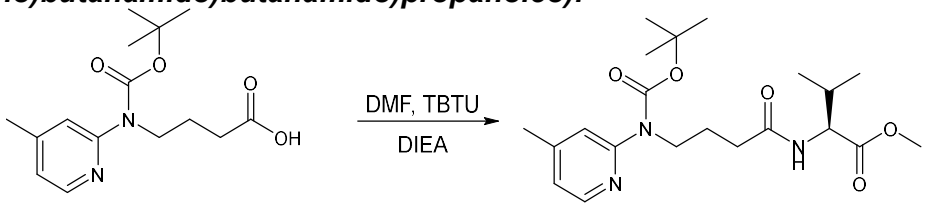


Compuesto 5 Estructura 22b

[0445] A una solución del compuesto 5 (142 mg, 0,16 mmol) en THF (2 mL) y agua desionizada (1,5 mL) a 0 °C se le añadió una solución de hidróxido de litio (11 mg, 0,47 mmol) en agua desionizada (0,5 mL) La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se acidificó hasta un pH=3 con HCl 6 M (ac.). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 8 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. Al residuo crudo se le añadió TFA

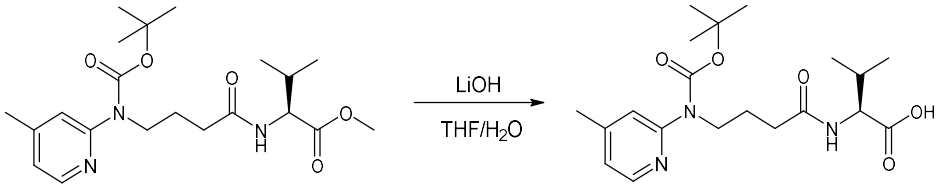
(2,0 mL) y agua (100 µL). La mezcla de reacción se revolvió durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El solvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se coevaporó con acetonitrilo:tolueno [1:1] (2 x 20 mL). La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-13% en DCM. Rendimiento de la estructura 22b: 100 mg (80%). [M+H] calculado para $C_{42}H_{53}N_7O_9$: 800,92, hallado: 800,81.

Síntesis de Estructura 23b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((S)-3-metil-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)butanamido)propanoico).



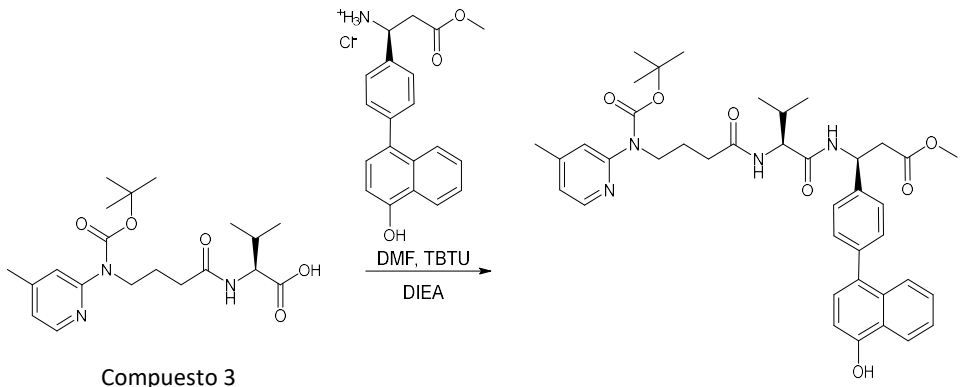
Compuesto 1 Compuesto 2

[0446] A una solución de compuesto 1 (250 mg, 0,85 mmol), sal de hidrocloruro de éster metílico de L-valina (157 mg, 0,93 mmol) y TBTU (327 mg, 1,02 mmol) en DMF (2 mL) se le añadió DIPEA (329 mg, 444 µL, 2,55 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La reacción se desactivó con solución saturada de NH_4Cl (acuosa) (0,75 mL) y agua desionizada (1 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (3 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 3 mL). La fase orgánica combinada se lavó con solución saturada de $NaHCO_3$ (acuosa) (2 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-5% en DCM. Rendimiento del compuesto 2: 297 mg (86%). [M+H] calculado para $C_{21}H_{33}N_3O_5$: 408,51, hallado: 407,87.



Compuesto 2 Compuesto 3

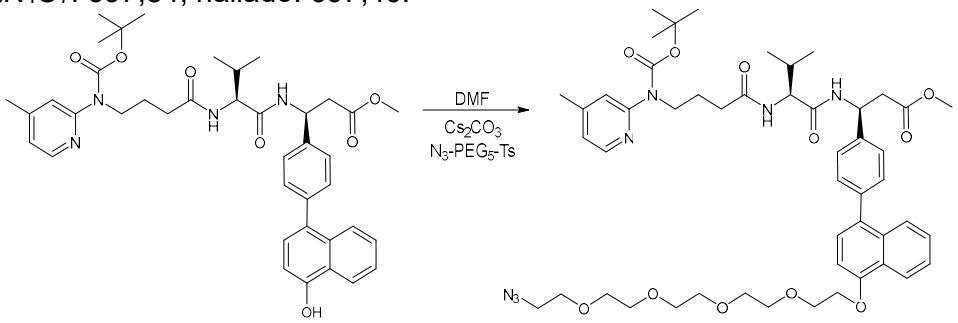
[0447] A una solución del compuesto 2 (297 mg, 0,73 mmol) en THF (4,5 mL) y agua desionizada (3 mL) a 0 °C se le añadió una solución de hidróxido de litio (52 mg, 2,19 mmol) en agua desionizada (1 mL) La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 40 minutos. La mezcla de reacción se acidificó hasta un pH=3 con HCl 6 M (ac.). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. El compuesto 3 se usó sin purificación adicional, suponiendo un rendimiento del 100%. [M+H] calculado para $C_{20}H_{31}N_3O_5$: 394,49, hallado: 393,83.



Compuesto 3 Compuesto 4

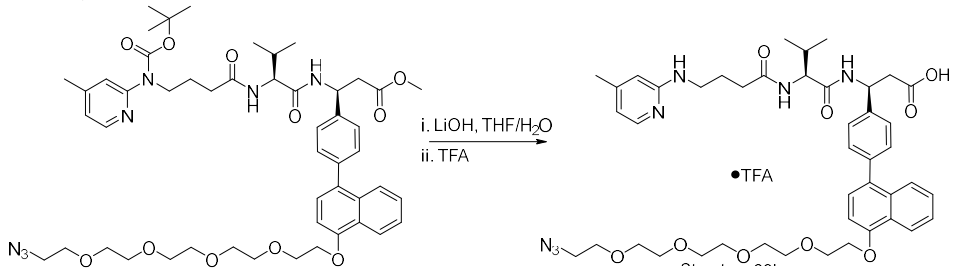
[0448] A una solución de compuesto 3 (287 mg, 0,73 mmol), compuesto 3a (287 mg, 0,80 mmol) y TBTU (281 mg, 0,88 mmol) en DMF (3 mL) se le añadió DIPEA (283 mg, 382 µL, 2,19 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada. NH_4Cl (acuosa) (2,5 mL) y agua desionizada (2,5 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (12 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 12 mL). La fase orgánica combinada se lavó con media solución saturada de NH_4Cl (acuosa)

(10 mL), media solución saturada de $NaHO_3$ (acuosa) (10 mL), media solución saturada de de NaCl (acuosa) (10 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-5% en DCM. Rendimiento del compuesto 4: 374 mg (74%). [M+H] calculado para $C_{40}H_{48}N_4O_7$: 697,84, hallado: 697,46.



Compuesto 4 Compuesto 5

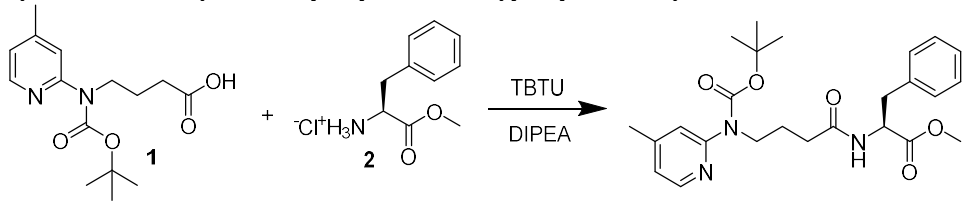
[0449] A una solución de compuesto 4 (150 mg, 0,215 mmol) y azido-PEG_5-OT (180 mg, 0,43 mmol) en DMF anhidro (1,2 mL) se le añadió Cs_2CO_3 (140 mg, 0,43 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada. $NaHCO_3$ (acuosa) (10 mL) y agua desionizada (5 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (7,5 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 7,5 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-4% en DCM. Rendimiento del compuesto 5: 134 mg (66%). [M+H] calculado para $C_{50}H_{67}N_7O_{11}$: 943,12, hallado: 942,96.



Compuesto 5 Estructura 23b

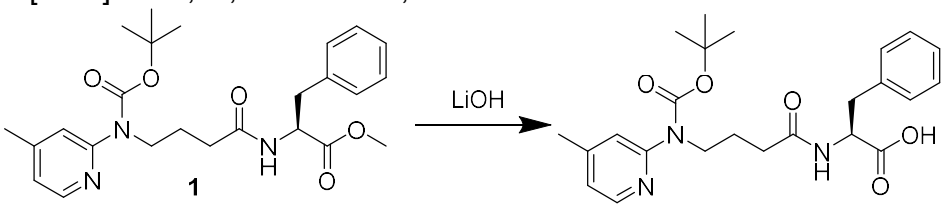
[0450] A una solución del compuesto 5 (134 mg, 0,14 mmol) en THF (2 mL) y agua desionizada (1,5 mL) a 0 °C se le añadió una solución de hidróxido de litio (10 mg, 0,43 mmol) en agua desionizada (0,5 mL) La reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se acidificó hasta un pH=3 con HCl 6 M (ac.). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 8 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. Al residuo crudo se le añadió TFA (1,9 mL) y agua (95 µL). La mezcla de reacción se revolvió durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El solvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se coevaporó con acetonitrilo:tolueno [1:1] (2 x 20 mL). La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-10% en DCM. Rendimiento de la estructura 23b: 36 mg (30,5%). [M+H] calculado para $C_{44}H_{57}N_7O_9$: 828,97, hallado 828,90.

Síntesis de Estructura 24b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)-3-fenilpropanamido)propanoico).

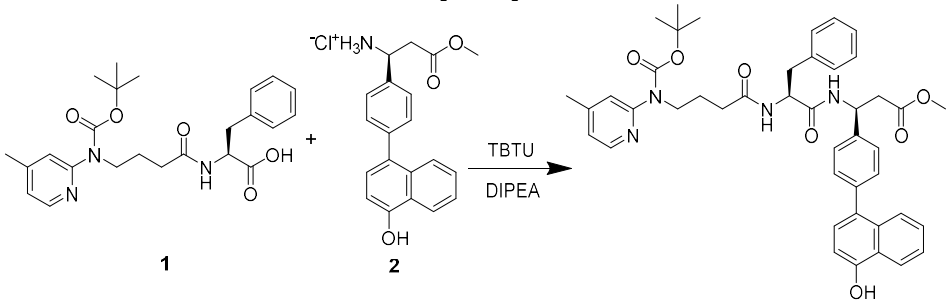


[0451] A una solución de compuesto 1 (200 mg, 0,679 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (161 mg, 0,747 mmol, 1,2 equiv.) y TBTU (261 mg, 0,815 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (4 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,355 mL, 2,038 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

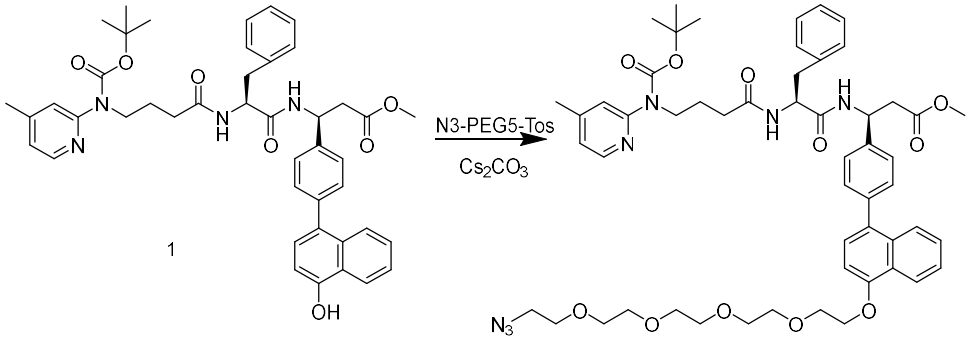
como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 456,24, hallado 456,12.



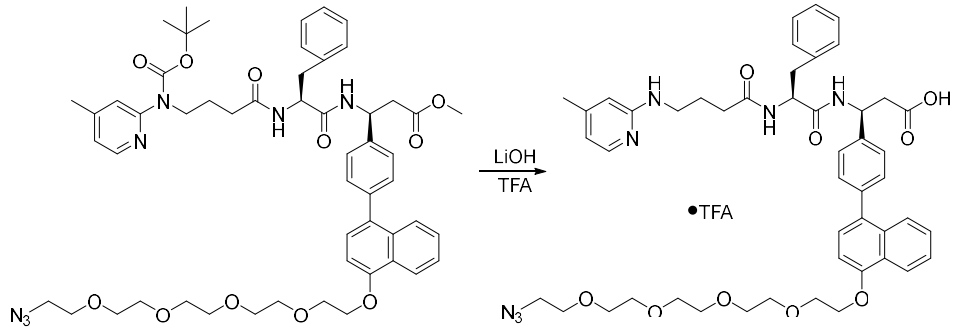
[0452] A una solución del compuesto 1 (300 mg, 0,658 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio (47 mg, 1,975 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 442,23, hallado 442,08.



[0453] A una solución de compuesto 1 (290 mg, 0,656 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (258 mg, 0,722 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (253 mg, 0,788 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (5 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,343 mL, 1,970 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 745,35, hallado 745,63.



[0454]A una solución de compuesto 1 (113 mg, 0,151 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (126 mg 0,303 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (99 mg, 0,303 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 990,49, hallado 990,87.

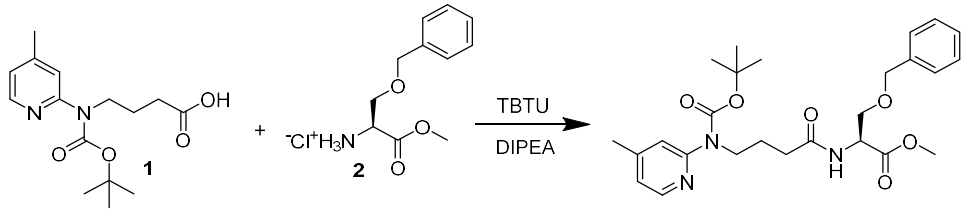


1 **Estructura 24b**

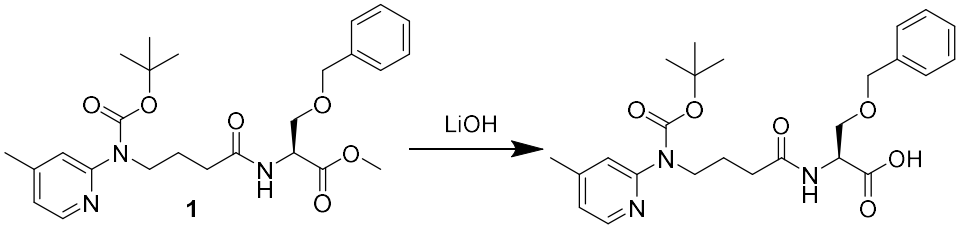
[0455]A una solución del compuesto 1 (140 mg, 0,141 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (10 mg, 0,424 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash®

usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 6-10% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 876,42, hallado 876,88.

Síntesis de Estructura 25b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((S)-3-(benciloxi)-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)propanamido)propanoico).

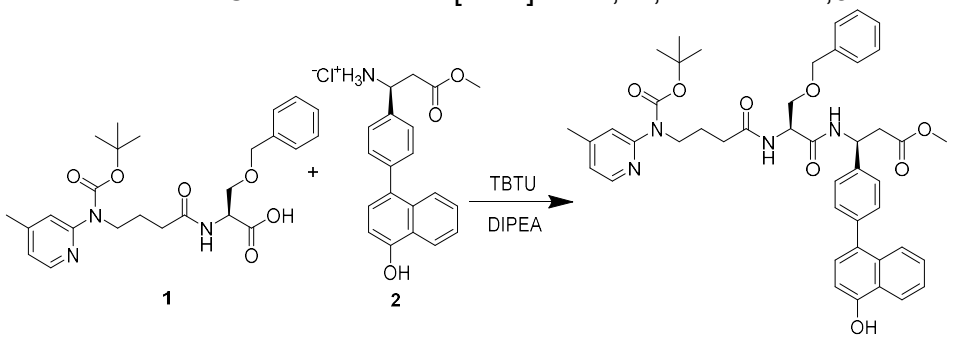


[0456] A una solución de compuesto 1 (100 mg, 0,339 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (92 mg, 0,373 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (131 mg, 0,407 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (4 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,178 mL, 1,019 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 486,25, hallado 486,37.



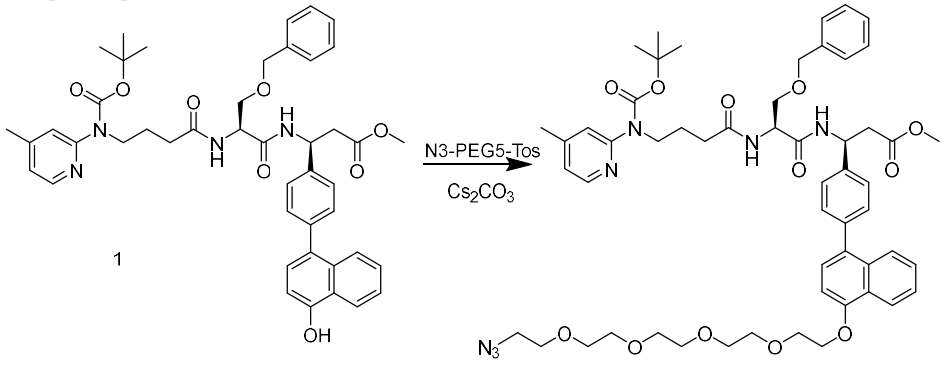
[0457] A una solución del compuesto 1 (160 mg, 0,329 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio (23 mg, 0,988 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase

acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 472,24, hallado 472,32.



1 2

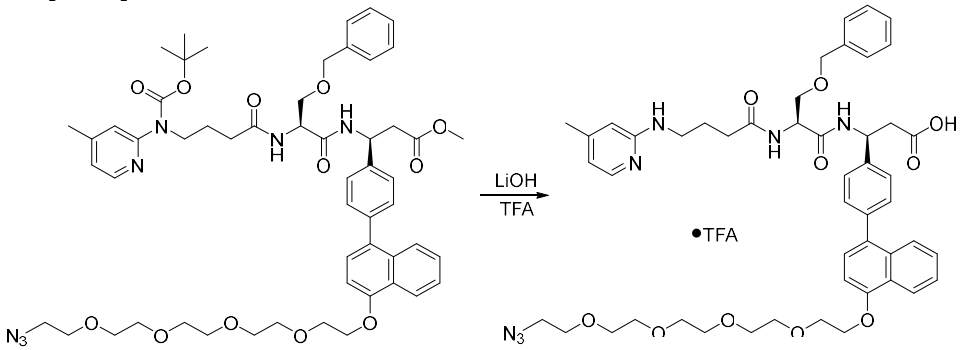
[0458] A una solución de compuesto 1 (1600 mg, 0,339 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (133 mg, 0,373 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (130 mg, 0,815 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (3 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,177 mL, 1,018 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 775,36, hallado 775,87.



1

[0459] A una solución de compuesto 1 (140 mg, 0,180 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (150 mg 0,361 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (117 mg, 0,361 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con

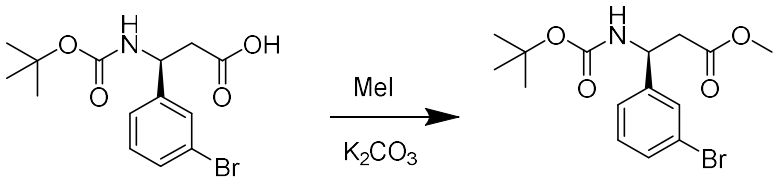
una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 1020,50, hallado 1020,88.



1 **Estructura 25b**

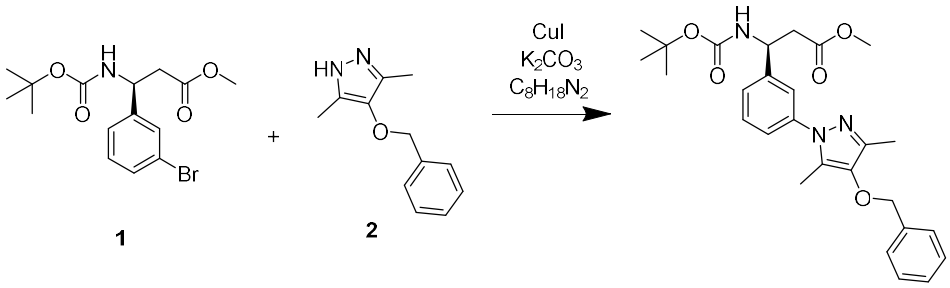
[0460]A una solución del compuesto 1 (170 mg, 0,166 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (12 mg, 0,499 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 1 horas. El pH se ajustó a 3,0 con HCl (6N) y se extrajo la fase acuosa con EtOAc (3 × 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (4 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 6-10% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 906,43, hallado 906,95.

Síntesis de Estructura 27b ácido ((S)-3-(3-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)-3,5-dimetil-1H-pirazol-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



1

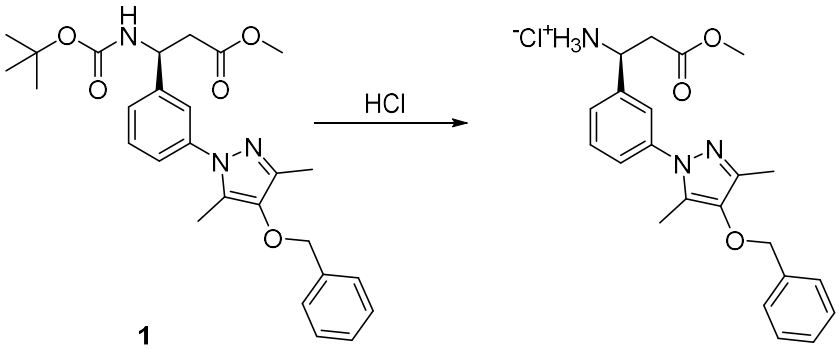
[0461] A una solución de compuesto 1 (3,0 g, 8,71 mmol, 1 equiv) y carbonato de potasio (1,806 g, 13,073 mmol, 1,5 equiv) en DMF anhidro (10 mL) se le agregó yoduro de metilo (1,085 mL, 17,431 mmol, 2,0 equiv) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego, la reacción se inactivó con agua (20 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo en hexano al 15%. LC-MS: calculado [M+H]+ 358,06, hallado 358,15.



1 **2**

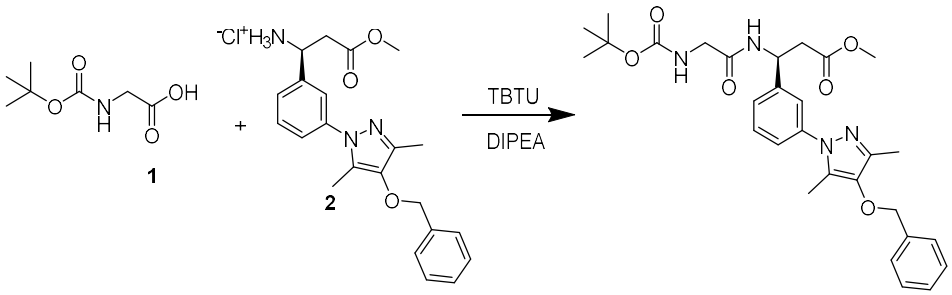
[0462] La mezcla del compuesto 1 (200 mg, 0,558 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (169 mg, 0,837 mmol, 1,5 equiv.), yoduro de cobre (I) (106 mg, 0,558 mmol, 1,0 equiv.), carbonato de potasio (154 mg, 1,116 mmol, 2.0 equiv.) y trans-N, N'-dimetilciclohexano-1,2-diamina (88 µL, 0,558 mmol, 1,0 equiv.) en DMF anhidro (5 mL) se rellenó con nitrógeno 3 veces. La mezcla se agitó a 120 °C durante 24 h. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

como fase estacionaria y se eluyó con acetato de etilo al 30-40% en hexano. LC-MS: calculado [M+H]+ 480,24, hallado 480,43.



1

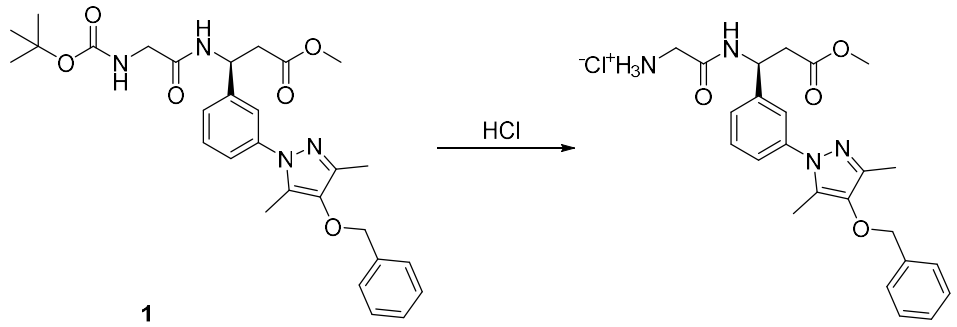
[0463] El compuesto 1 (30 mg, 0,0626 mmol, 1,0 equiv.) se enfrió por baño de hielo. Se añadió HCl en dioxano (0,313 mL, 1,25 mmol, 20 equiv.) al matraz. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 380,19, hallado 380,33.



1 2

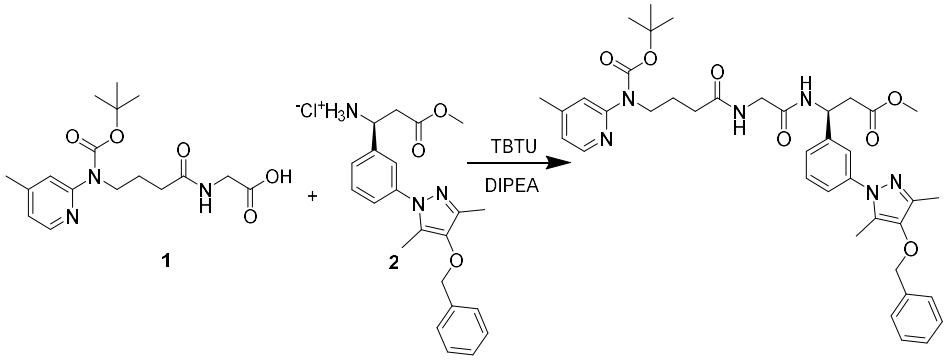
[0464] A una solución de compuesto 1 (10 mg, 0,0571 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (26 mg, 0,0628 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (22 mg, 0,0685 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (1 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,030 mL, 0,171 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (5 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 537,26, hallado 537,41.



1

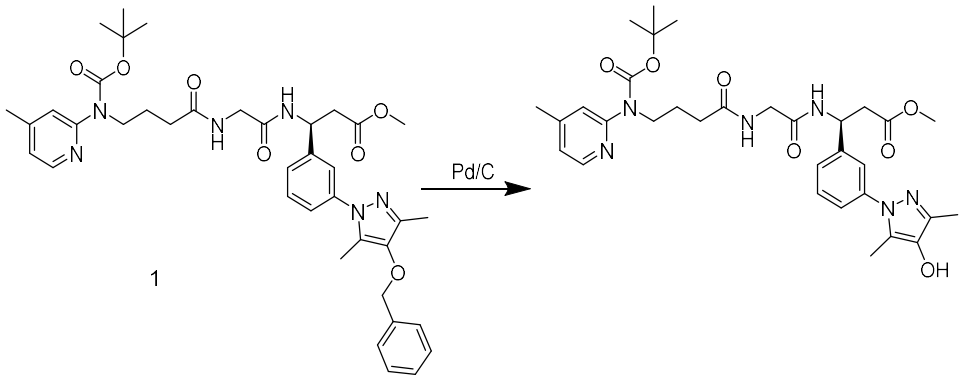
[0465] El compuesto 1 (30 mg, 0,0626 mmol, 1,0 equiv.) se enfrió por baño de hielo. Se añadió HCl en dioxano (0,313 mL, 1,25 mmol, 20 equiv.) al matraz. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 437,21, hallado 437,31.



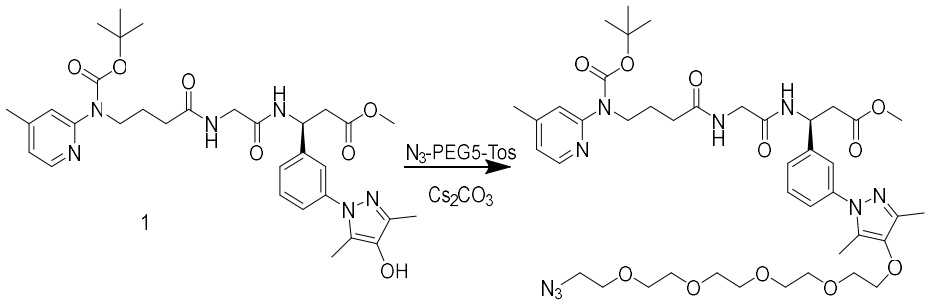
1 2

[0466] A una solución de compuesto 1 (20 mg, 0,0569 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (26 mg, 0,0626 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (22 mg, 0,0683 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,03 mL, 0,170 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (5 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-5% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 713,36, hallado 713,85.

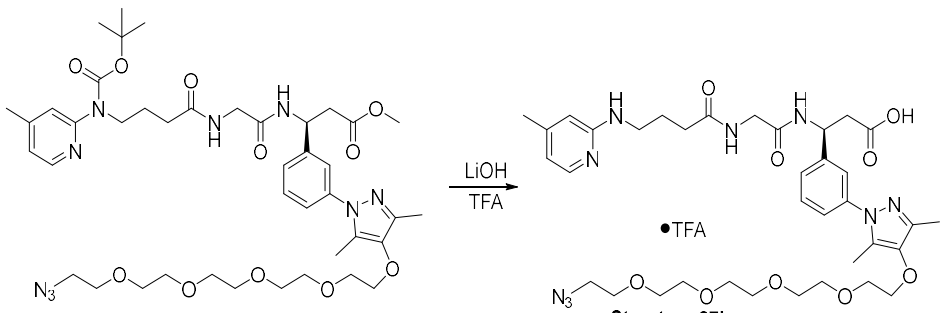


[0467] A una solución del compuesto 1 (0,033 g, 0,0463 mmol, 1 equiv.) en acetato de etilo (10 mL) se le añadió Pd/C al 10% (20 mg) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó con gas de hidrógeno a temperatura ambiente durante la noche. El catalizador se eliminó mediante filtración a través de Celite® y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 623,31, hallado 623,56.



[0468] A una solución de compuesto 1 (16 mg, 0,0257 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (22 mg 0,0514 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (17 mg, 0,0514 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de

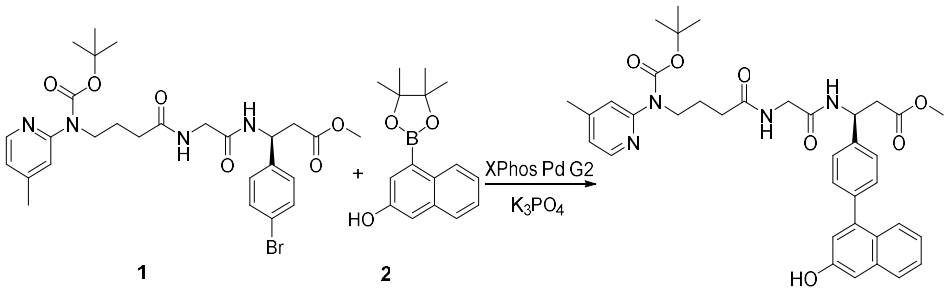
sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 868,45, hallado 868,96.



1 Estructura 27b

[0469] A una solución del compuesto 1 (5 mg, 0,0058 mmol, 1,0 equiv.) en THF (1 mL) y agua (1 mL) se le añadió hidróxido de litio (1 mg, 0,0346 mmol, 6,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El pH se ajustó a 3,0 mediante HCl (6N) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (1 mL) y DCM (1 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. LC-MS: calculado [M+H]+ 754,38, hallado 755.

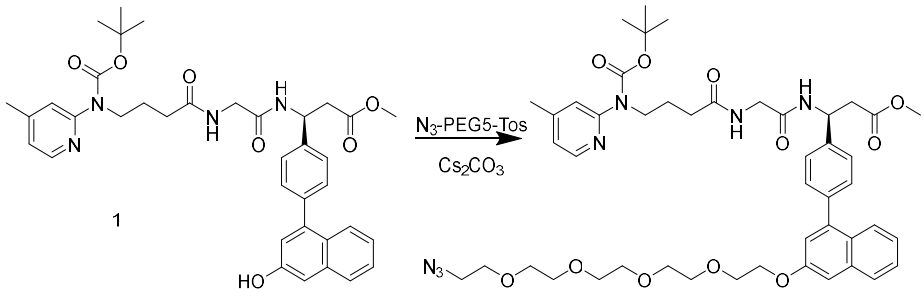
Síntesis de Estructura 29b ácido ((S)-3-(4-(3-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-(2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)acetamido)propanoico).



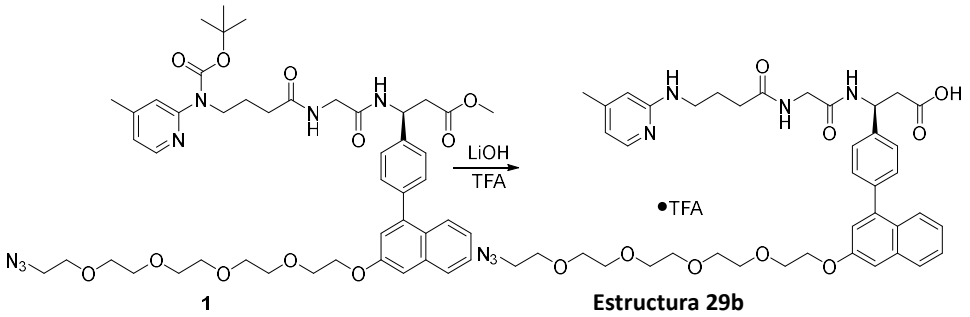
1 2

[0470] El compuesto 1 (100 mg, 0,169 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (68 mg, 0,253 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (3 mg, 0,0034 mmol,

0,02 equiv.) y K_3PO_4 (72 mg, 0,338 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 655,31, hallado 656.



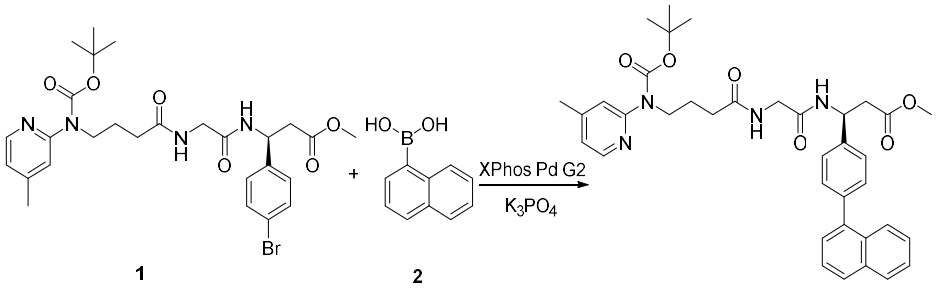
[0471]A una solución de compuesto 1 (100 mg, 0,152 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (127 mg 0,305 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (100 mg, 0,305 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 900,44, hallado 901.



1 Estructura 29b

[0472] A una solución del compuesto 1 (125 mg, 0,138 mmol, 1,0 equiv.) en THF (1 mL) y agua (1 mL) se le añadió hidróxido de litio (10 mg, 0,416 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El pH se ajustó a 3,0 mediante HCl (6N) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (3 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio. El producto se utilizó directamente sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 786,37, hallado 787.

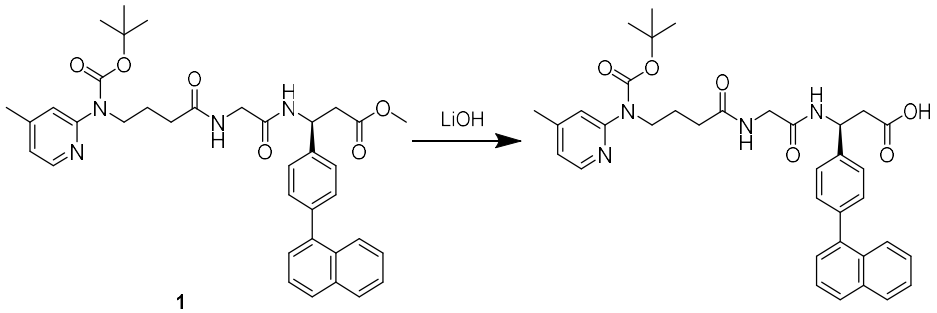
Síntesis de la Estructura 30b ((S)-N-(1-azido-21-(4-(naftalen-1-il)fenil)-19,23-dioxo-3,6,9,12,15-pentaoxa-18,22-diazatetracosan-24-il)-4-((4-metilpiridin-2-yl)amino)butanamida).



1 2

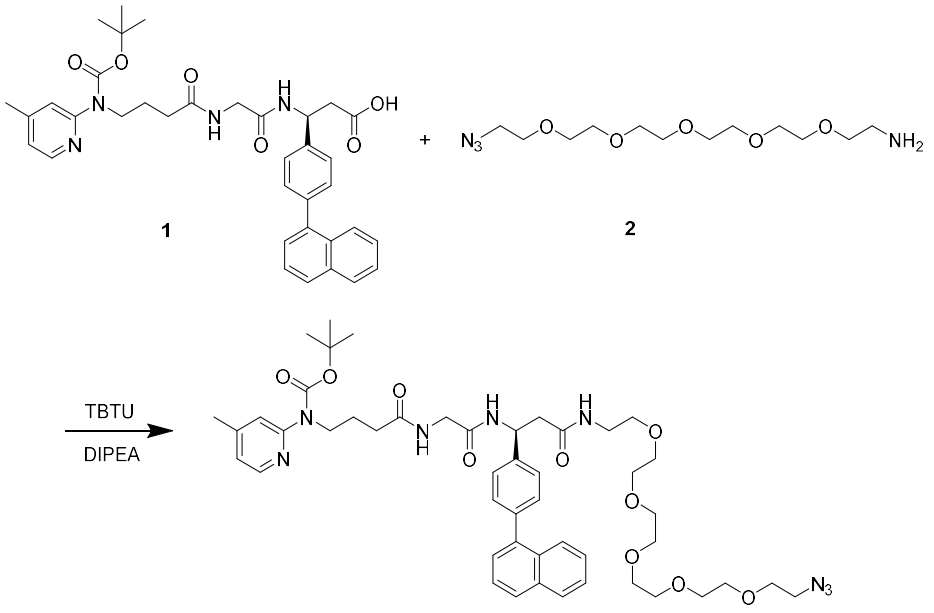
[0473] El compuesto 1 (100 mg, 0,169 mmol, 1,0 equiv.), compuesto 2 (43 mg, 0,253 mmol, 1,5 equiv.), XPhos Pd G2 (3 mg, 0,0034 mmol, 0,02 equiv.) y K_3PO_4 (72 mg, 0,338 mmol, 2,0 equiv.) se mezclaron en un matraz de fondo redondo. El matraz se selló con un tabique con tapa a rosca, y

luego se evacuó y se rellenó con nitrógeno (este proceso se repitió un total de 3 veces). Luego, se añadieron THF (5 mL) y agua (1 mL) mediante una jeringa. La mezcla se burbujeó con nitrógeno durante 10 min y la reacción se mantuvo a 40 °C durante 2 horas. La reacción se inactivó con agua (10 mL) y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El compuesto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 639,31, hallado 640.

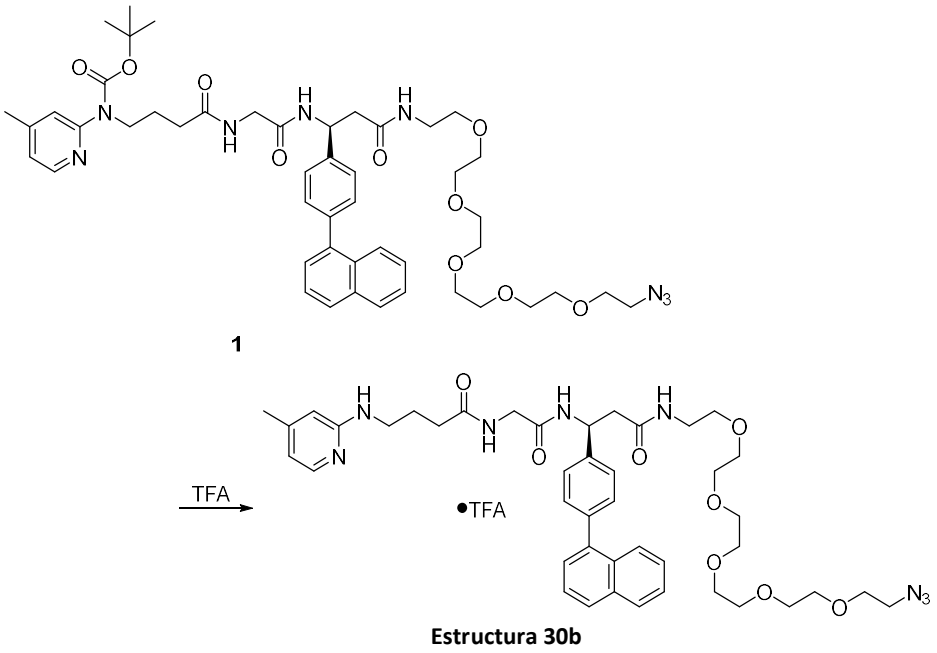


1

[0474] A una solución del compuesto 1 (90 mg, 0,140 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio (10 mg, 0,422 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 625,29, hallado 625,36.



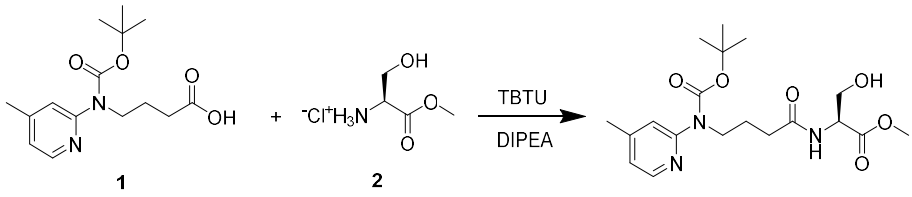
[0475] A una solución de compuesto 1 (88 mg, 0,140 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (48 mg, 0,154 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (54 mg, 0,169 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (3 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,074 mL, 0,422 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-6% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 913,47, hallado 913,70.



Estructura 30b

[0476] A una solución de compuesto 1 (93 mg, 0,101 mmol,1,0 mL) en DCM (2 mL) se le agregó TFA (3 mL) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. El producto se eluyó con metanol al 10-12% en diclorometano. LC-MS: calculado [M+H]+ 813,42, hallado 813,68.

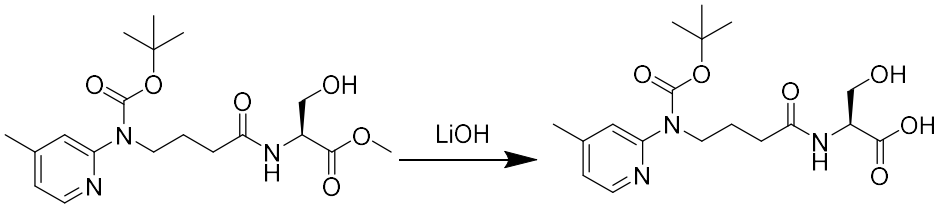
Síntesis de Estructura 31b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((S)-3-(hidroxi-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)propanamido)propanoico).



1 2

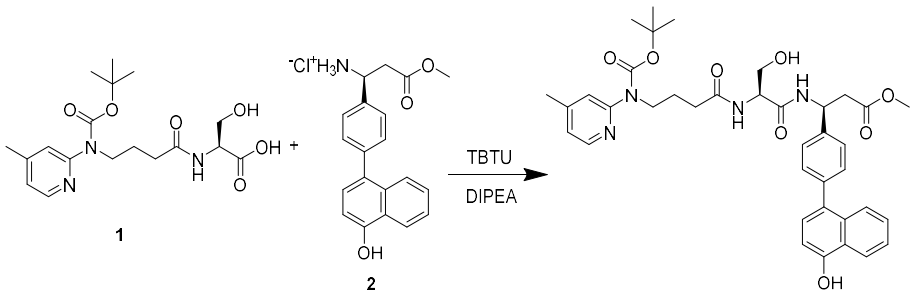
[0477] A una solución de compuesto 1 (150 mg, 0,509 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (87 mg, 0,560 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (196 mg, 0,196 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (3 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,074 mL,

0,422 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-6% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 396,21, hallado 396,17.



1

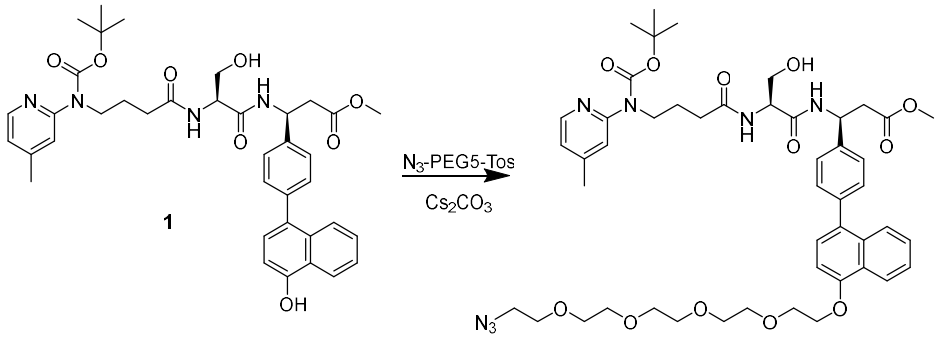
[0478] A una solución del compuesto 1 (196 mg, 0,495 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio (35 mg, 1,486 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 382,19, hallado 382,13.



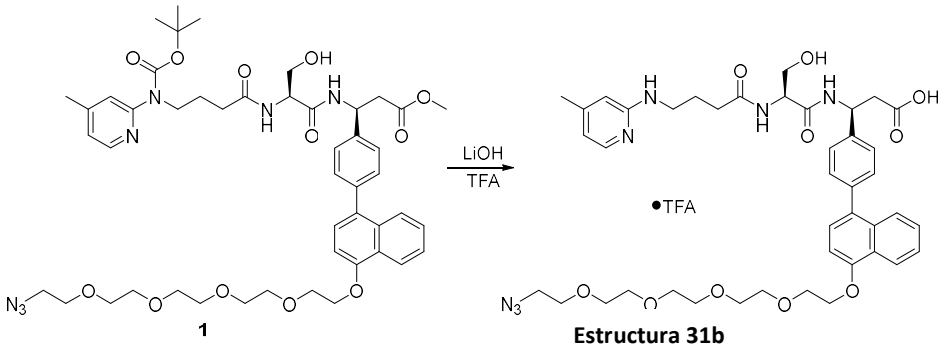
1 2

[0479] A una solución de compuesto 1 (189 mg, 0,495 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (195 mg, 0,545 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (190 mg, 0,595 mmol,

1,2 equiv.) en DMF anhidro (5 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,259 mL, 1,486 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-6%en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 685,32, hallado 685,58.



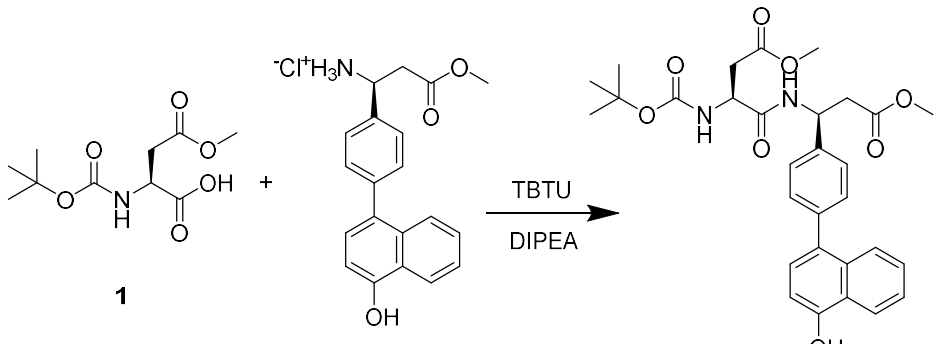
[0480] A una solución de compuesto 1 (75 mg, 0,109 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (91 mg 0,219 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (71 mg, 0,219 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a 40 °C. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. El rendimiento es del 29%. LC-MS: calculado [M+H]+ 930,45, hallado 930,90.



1 Estructura 31b

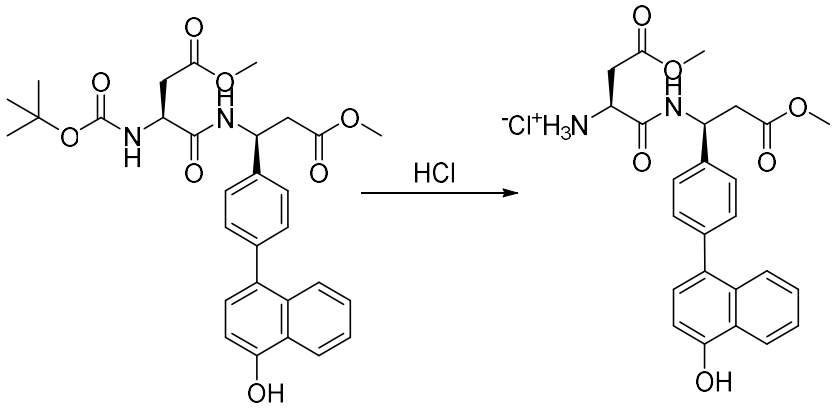
[0481]A una solución del compuesto 1 (30 mg, 0,0323 mmol, 1,0 equiv.) en THF (1 mL) y agua (1 mL) se le añadió hidróxido de litio (2,3 mg, 0,0968 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El pH se ajustó a 3,0 mediante HCl (6N) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (2 mL) y DCM (1 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. El producto se eluyó con metanol al 12-15% en diclorometano. LC-MS: calculado [M+H]+ 816,39, hallado 816,92.

Síntesis de Estructura 32b ácido ((S)-4-(((S)-1-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-2-carboxietil)amino)-3-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)-4-oxobutanoico).



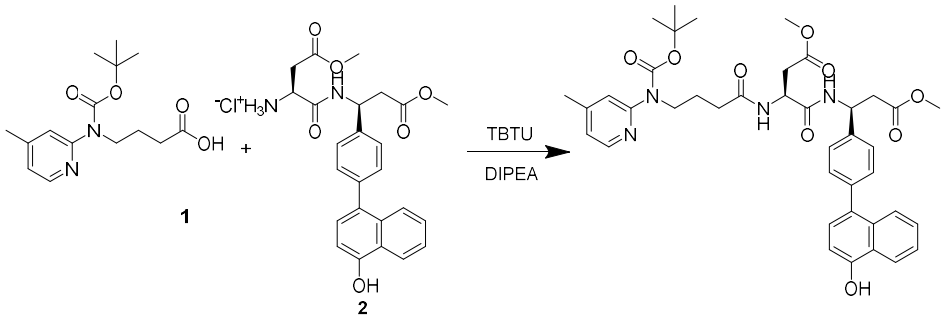
1 2

[0482] A una solución de compuesto 1 (100 mg, 0,404 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (160 mg, 0,444 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (155 mg, 0,485 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,211 mL, 1,213 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 551,23, hallado 551,45.

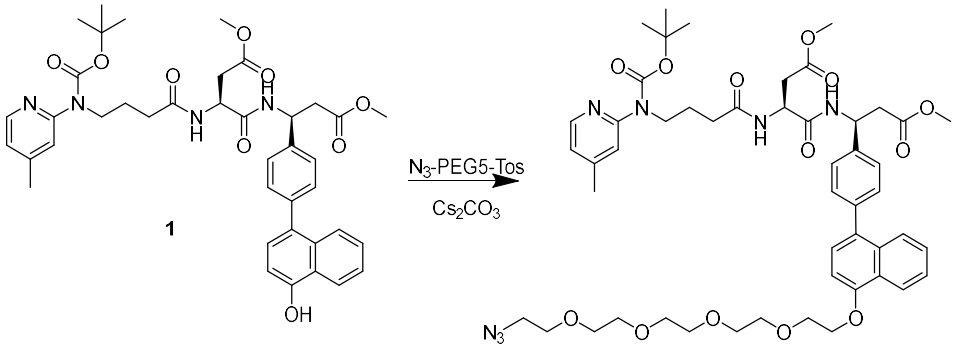


1

[0483] El compuesto 1 (0,164 g, 0,297 mmol, 1,0 equiv.) se enfrió por baño de hielo. Se añadió HCl en dioxano (0,745 mL, 2,978 mmol, 10 equiv.) al matraz. La reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y el producto se usó directamente sin purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 451,18, hallado 451,35.

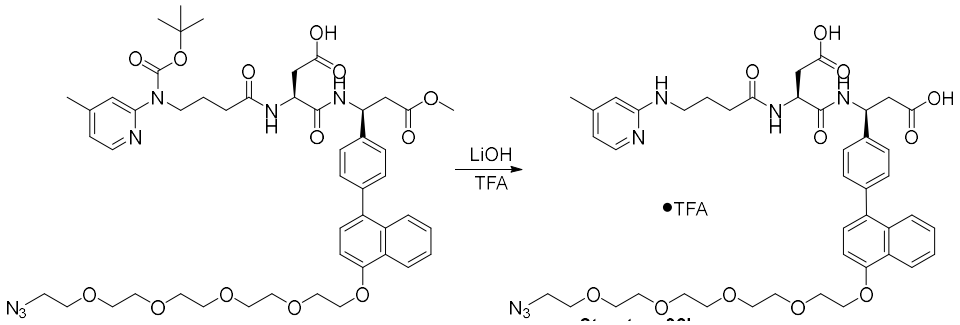


[0484] A una solución de compuesto 1 (100 mg, 0,404 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (160 mg, 0,444 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (155 mg, 0,485 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,211 mL, 1,213 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-5% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 727,33, hallado 727,53.



[0485] A una solución de compuesto 1 (150 mg, 0,206 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (172 mg 0,412 mmol, 2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (134 mg, 0,412 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se

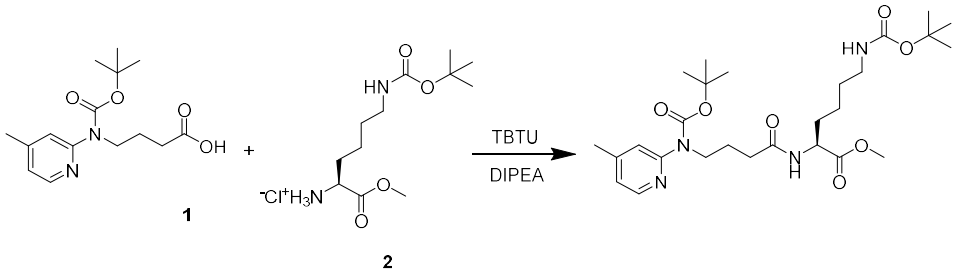
secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. El rendimiento es del 29%. LC-MS: calculado [M+H]+ 940,45, hallado 940,71.



1 Estructura 32b

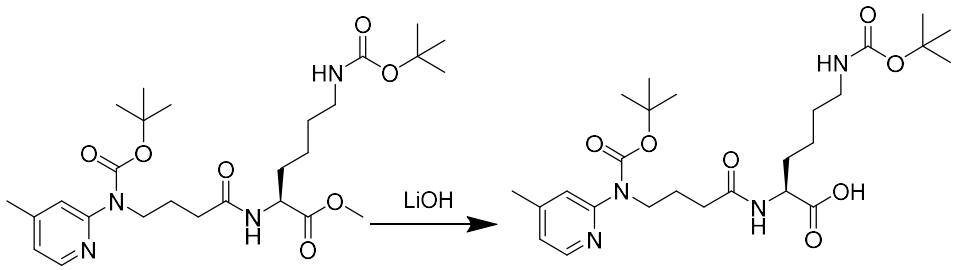
[0486] A una solución del compuesto 1 (30 mg, 0,0344 mmol, 1,0 equiv.) en THF (1 mL) y agua (1 mL) se le añadió hidróxido de litio (2,5 mg, 0,103 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El pH se ajustó a 3,0 mediante HCl (6N) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (2 mL) y DCM (1 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. El producto se eluyó con metanol al 20% en diclorometano. LC-MS: calculado [M+H]+ 844,38, hallado 844,56.

Síntesis de la Estructura 33b ((S)-3-((S)-6-amino-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)hexanamido)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)propanoico).



1 2

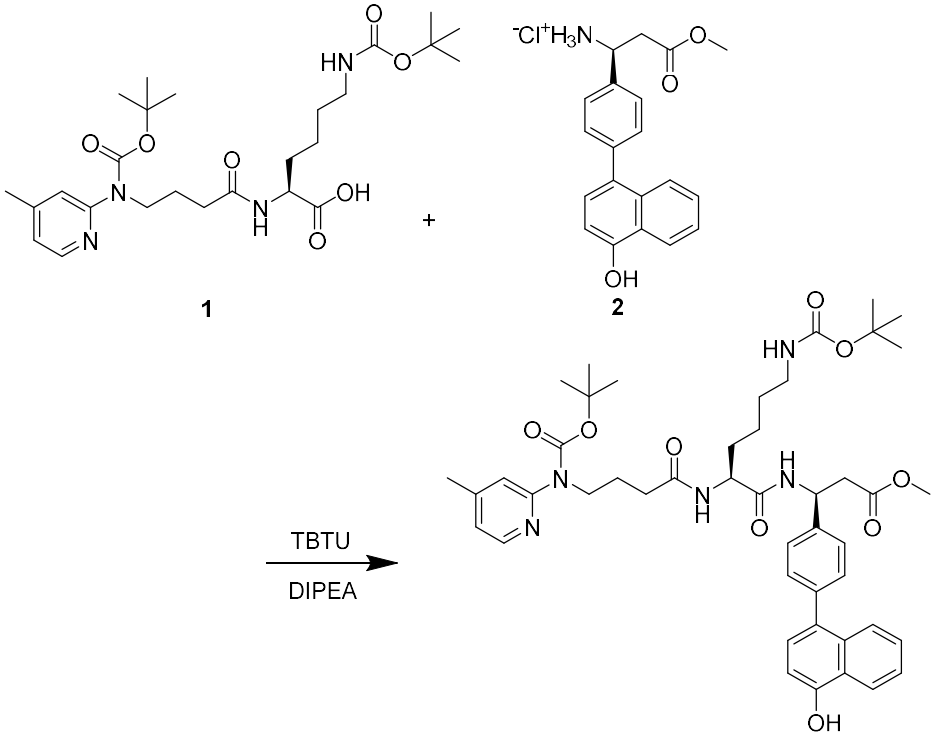
[0487] A una solución de compuesto 1 (150 mg, 0,509 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (166 mg, 0,560 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (196 mg, 0,611 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (3 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,266 mL, 1,528 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-5% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 537,32, hallado 537,23.



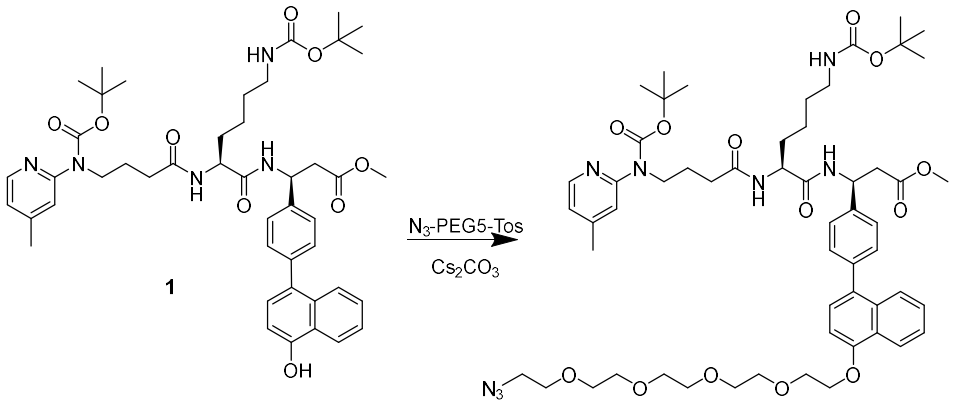
1

[0488] A una solución del compuesto 1 (230 mg, 0,428 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio (31 mg, 1,285 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin

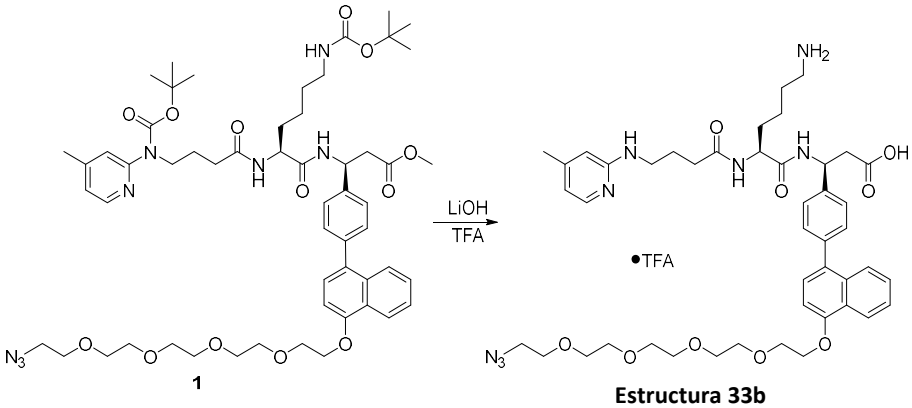
ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 523,31, hallado 523,55.



[0489] A una solución de compuesto 1 (230 mg, 0,440 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (173 mg, 0,484 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (170 mg, 0,528 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,230 mL, 1,320 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4-6% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 826,43, hallado 826,65.



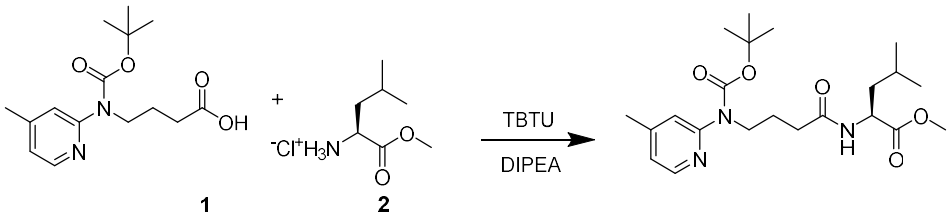
[0490] A una solución de compuesto 1 (150 mg, 0,181 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (113 mg 0,272 mmol, 1,5 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (118 mg, 0,363 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 3 horas. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (5 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 4% en DCM. El rendimiento es del 66%. LC-MS: calculado [M+H]+ 1071,57, hallado 1071,89.



[0491] A una solución del compuesto 1 (130 mg, 0,121 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (8,7 mg, 0,364 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El pH se ajustó a 3,0 mediante HCl (6N) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). La fase orgánica se

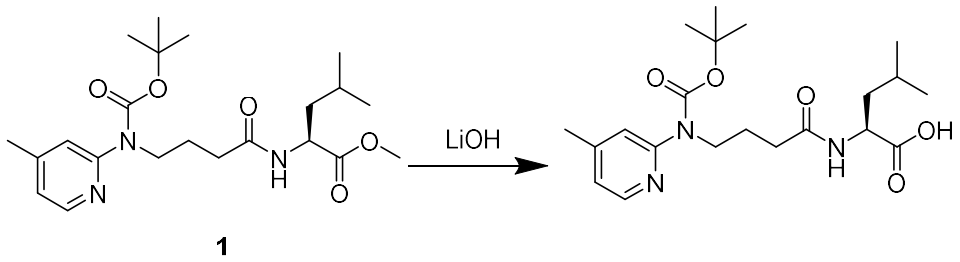
combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (3 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. El producto se eluyó con metanol al 20% en diclorometano. LC-MS: calculado [M+H]+ 857,45, hallado 857,64.

Síntesis de Estructura 34b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((S)-4-metil-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)pentanamido)propanoico).



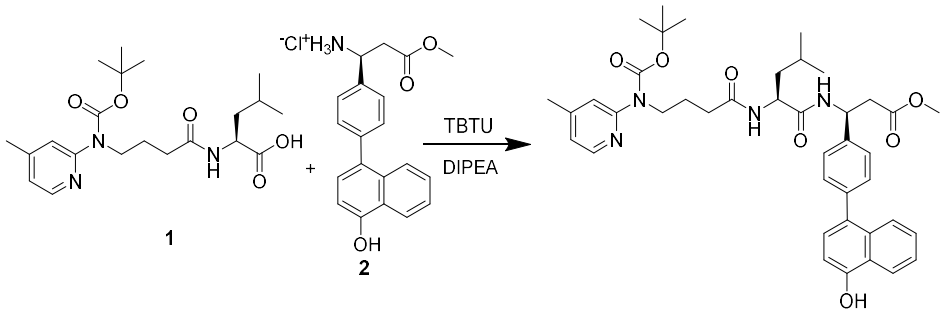
1 2

[0492] A una solución de compuesto 1 (150 mg, 0,509 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (101 mg, 0,560 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (196 mg, 0,611 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (3 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,266 mL, 1,528 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (5 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-5% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 422,26, hallado 422,36.



1

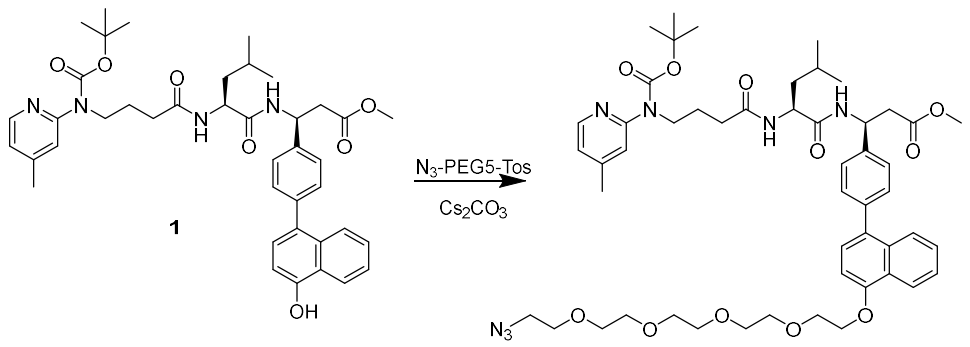
[0493] A una solución del compuesto 1 (186 mg, 0,441 mmol, 1 equiv.) en THF (3 mL) y H_2O (3 mL) se le añadió hidróxido de litio (31 mg, 1,323 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. LC-MS: calculado [M+H]+ 408,24, hallado 408,23.



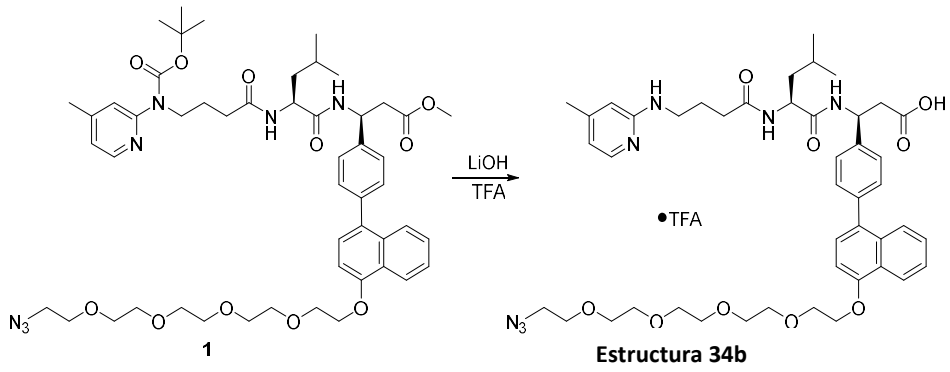
1 2

[0494] A una solución de compuesto 1 (168 mg, 0,412 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (162 mg, 0,453 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (159 mg, 0,494 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,215 mL, 1,237 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice

como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 2-4% en DCM. LC-MS: calculado [M+H]+ 711,37, hallado 711,69.



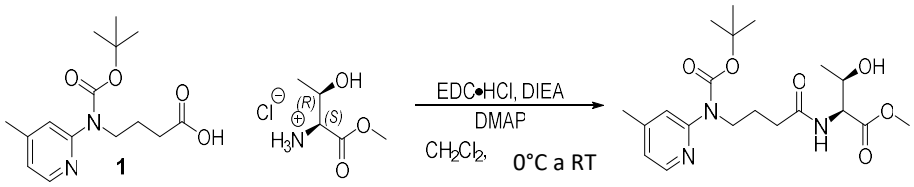
[0495] A una solución de compuesto 1 (150 mg, 0,206 mmol, 1 equiv.) y azido-PEG5-OTs (132 mg 0,317 mmol, 1,5 equiv.) en DMF anhidro (2 mL) se le agregó Cs_2CO_3 (137 mg, 0,422 mmol, 2 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 3 horas. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria y se eluyó con metanol al 3-4% en DCM. El rendimiento es del 82%. LC-MS: calculado [M+H]+ 956,51, hallado 956,64.



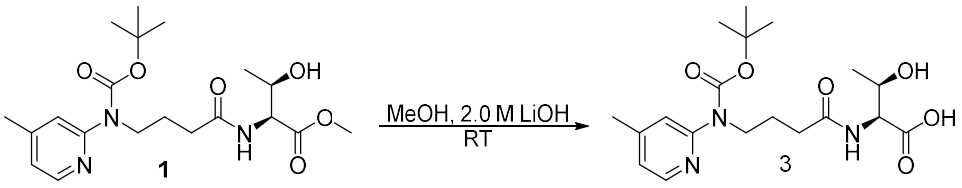
[0496] A una solución del compuesto 1 (160 mg, 0,167 mmol, 1,0 equiv.) en THF (2 mL) y agua (2 mL) se le añadió hidróxido de litio (12 mg, 0,502 mmol, 3,0 equiv.) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. El pH se ajustó a 3,0 mediante HCl

(6N) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 10 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. Se añadieron TFA (3 mL) y DCM (2 mL) al residuo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 horas. El solvente se eliminó mediante evaporador rotatorio y se separó mediante CombiFlash® usando gel de sílice como fase estacionaria. El producto se eluyó con metanol al 8-10% en diclorometano. LC-MS: calculado [M+H]+ 842,44, hallado 842,67.

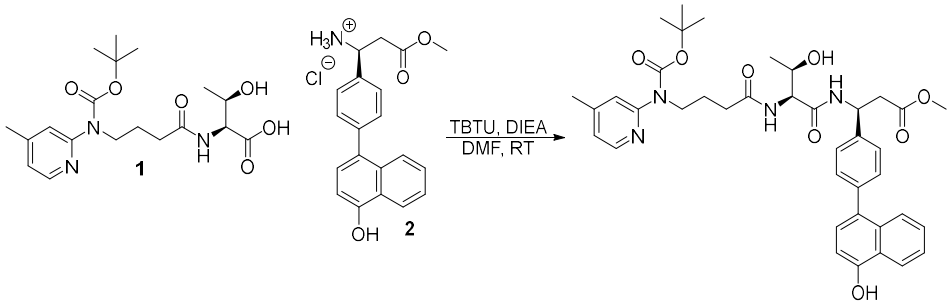
Síntesis de Estructura 35b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((2S,3R)-3-hidroxi-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)butanamido)propanoico).



[0497] A un vial que contenía L-treonina-OMe HCl (1,000 g, 5,896 mmol, 1.3 eq) se le añadió el compuesto 1 (1,335 g, 4,535 mmol, 1 eq), dimetilaminopiridina (0,277 g, 2,268 mmol, 0,5 eq) y CH_2Cl_2 (13,3 mL). A la mezcla se le añadió diisopropilamina (2,054 mL, 11,792 mmol, 2,6 eq) y la solución resultante se enfrió hasta 0 °C. Se añadió EDC•HCl (1,130 g, 5,896 mmol, 1,3 eq) y la reacción se dejó agitar a 0 °C durante 30 minutos antes de calentar hasta temperatura ambiente. Se determinó que la reacción se completaba después de 16 horas mediante HPLC y se transfirió a un embudo separador, se lavó con NH_4Cl saturado al 66% (4 x 20 mL) y NH_4Cl saturado (20 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para producir un aceite viscoso (1,7588 g, 94,7%) que se llevó directamente al siguiente paso. LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 410,22, hallado 410,03

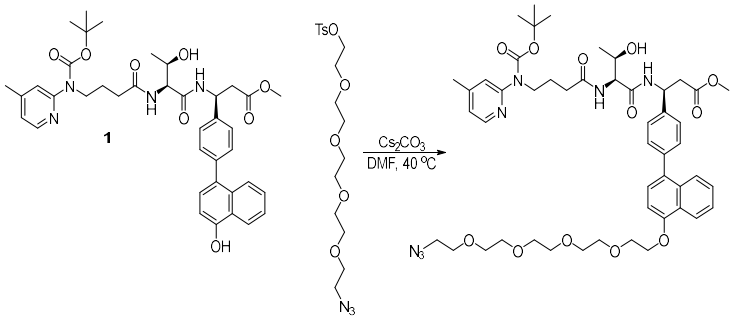


[0498] El compuesto **1** se disolvió en MeOH (4,5 mL) y a la mezcla se le añadió una solución 2,0 M de LiOH (9,1 mL). La reacción se agitó durante 1,5 h y se concentró para eliminar el MeOH. La mezcla se acidificó hasta un pH = 4 con $KHSO_4$ al 20% y se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL). El compuesto orgánico combinado se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para obtener **3** como un sólido (1,5095 g, 88,9% de rendimiento). LC-MS: calculado $[M-H]^-$: 394,21, hallado 394,37. ^1H NMR (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 8,26 (d, 1H), 7,27–7,24 (m, 1H), 7,23 (s, 1H), 6,95 (ddd, 1H), 4,60 (dd, 1H), 4,39 (qd, 1H), 3,97–3,77 (m, 2H), 2,36 (s, 3H),), 2,41–2,23 (m, 2H), 1,98–1,84 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,19 (d, 3H).

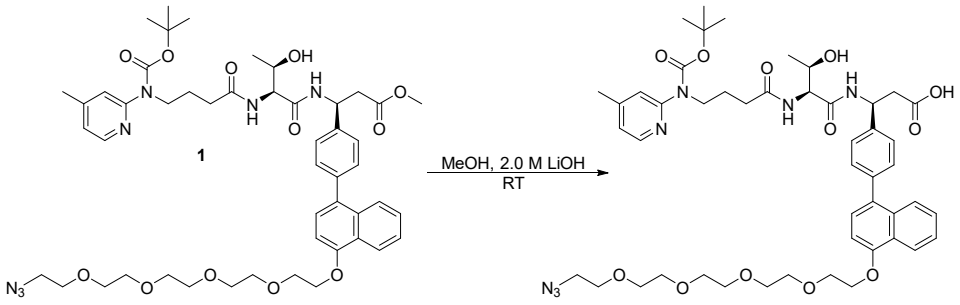


[0499] Se cambió un vial con compuesto **1** (0,200 g, 0,506 mmol, 1 eq), TBTU (0,195 g, 0,607 mmol, 1,2 eq), DMF (2,0 mL) y DIEA (0,264 mL, 1,517 mmol, 3,0 eq). La reacción se agitó durante 2 minutos antes de agregar 2 (0,253 g, 0,708 mmol, 1,4 eq). Después de completarse, la reacción se diluyó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL), extraída con EtOAc (3 x 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El material crudo se purificó mediante cromatografía de columna, eluyendo con MeOH al 0-20% en CH_2Cl_2

para obtener el producto (150,8 mg, 42,7% de rendimiento). LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 699,33, hallado 699,53

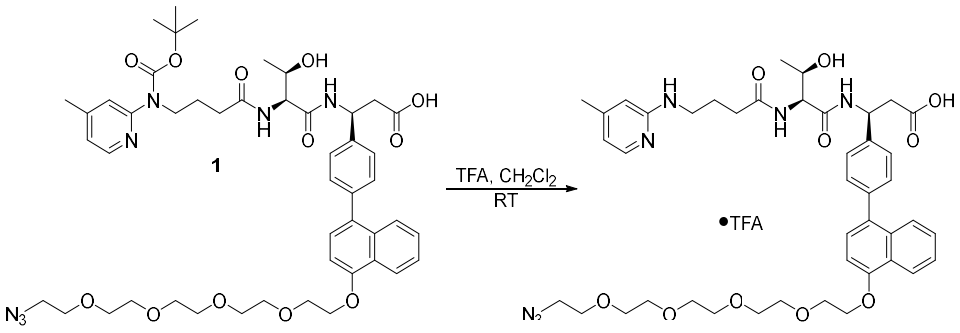


[0500] A un vial que contenía compuesto **1** (0,151 g, 0,216 mmol, 1 eq) se le agregó Cs_2CO_3 (0,106 g, 0,324 mmol, 1,5 eq) y DMF (1,9 mL). Se añadió N_3-PEG5-OT (0,135 g, 0,324 mmol, 1,5 eq) a la mezcla, y la reacción se agitó a 40 °C. Después de completarse, la reacción se diluyó con EtOAc (10 mL), solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (5 mL) y agua (5 mL). Las capas se separaron y la solución acuosa se extrajo un total de 3 x 10 mL con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El material crudo se purificó mediante cromatografía de columna, eluyendo con MeOH al 0-20% en CH_2Cl_2 para obtener el producto (103 mg, 50,4% de rendimiento). LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 944,47, hallado 944,56



[0501] A un vial que contiene el compuesto **1** (0,103 g, 0,109 mmol, 1 eq) se le añadió MeOH (1,5 mL) y LiOH 2,0 M (2,0 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente, luego se concentró para eliminar MeOH, se acidificó con $KHSO_4$ al 20% hasta un pH=2. A la mezcla se le añadió EtOAc (5 mL) y agua (4 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x5 mL). Las capas

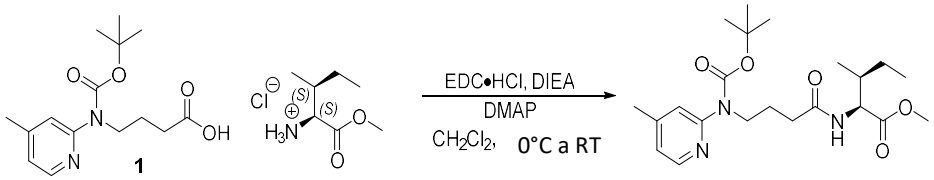
orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para obtener el producto (0,0879 g, 86,9%). LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 930,45, hallado 930,56.



Estructura 35b

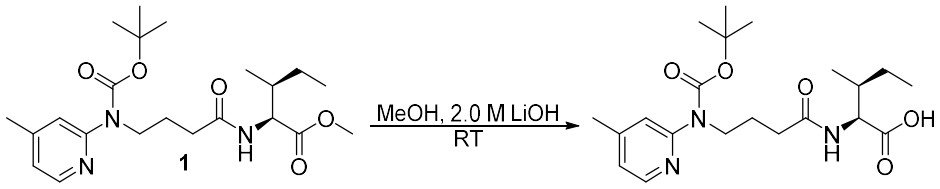
[0502] A un vial que contiene el compuesto **1** (0,0879 g, 0,0945 mmol, 1 eq) se le añadió CH_2Cl_2 (0,3 mL) y ácido trifluoroacético (0,64 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente. Después de completarse (>97% del producto), la reacción se concentró, se evaporó conjuntamente con tolueno (3 mL) y luego con acetonitrilo (2x3 mL). El producto se obtuvo con TFA adicional presente (115,6 mg).

Síntesis de Estructura 36b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((2S,3S)-3-metil-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)pentanamido)propanoico).

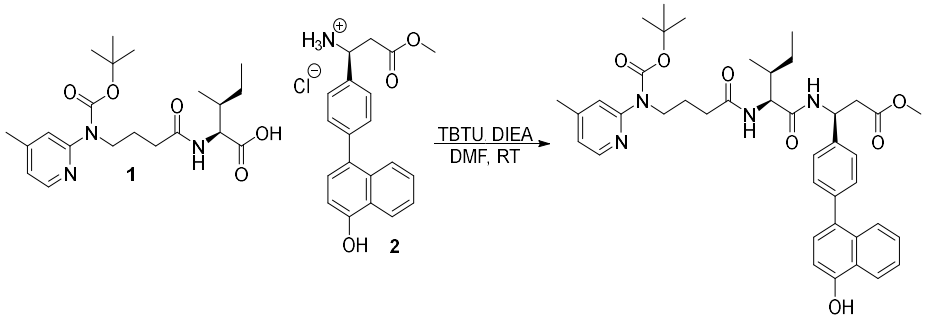


[0503] A un vial que contenía L-isoleucina-OMe HCl (1,000 g, 5,505 mmol, 1.3 eq) se le añadió el compuesto 1 (1,246 g, 4,234 mmol, 1 eq), dimetilaminopiridina (0,259 g, 2,117 mmol, 0,5 eq) y CH_2Cl_2 (12,5 mL). A la mezcla se le añadió diisopropilamina (2,054 mL, 11,792 mmol, 2,6 eq) y la solución resultante se enfrió hasta 0 °C. Se añadió EDC•HCl (1,055 g,

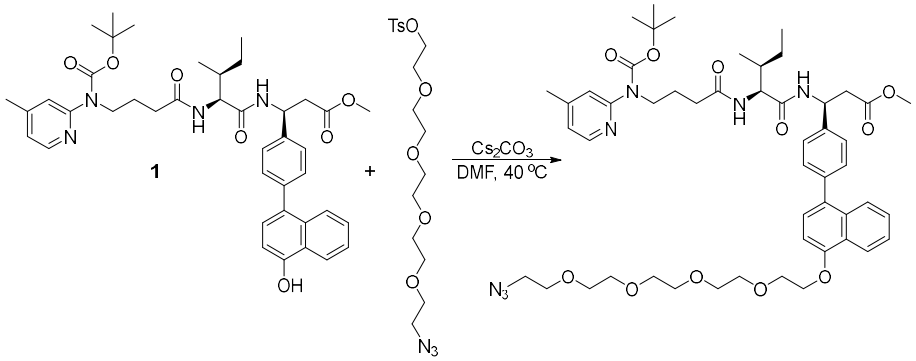
5,505 mmol, 1,3 eq) y la reacción se dejó agitar a 0 °C durante 30 minutos antes de calentar hasta temperatura ambiente. Se determinó que la reacción se completaba después de 16 horas mediante HPLC y se transfirió a un embudo separador, se lavó con NH_4Cl saturado al 66% (4 x 20 mL) y NH_4Cl saturado (1 x 20 mL). La capa orgánica se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para producir un aceite viscoso (1,8634 g, mojado con CH_2Cl_2) que se llevó directamente al siguiente paso. LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 422,26, hallado 422,00.



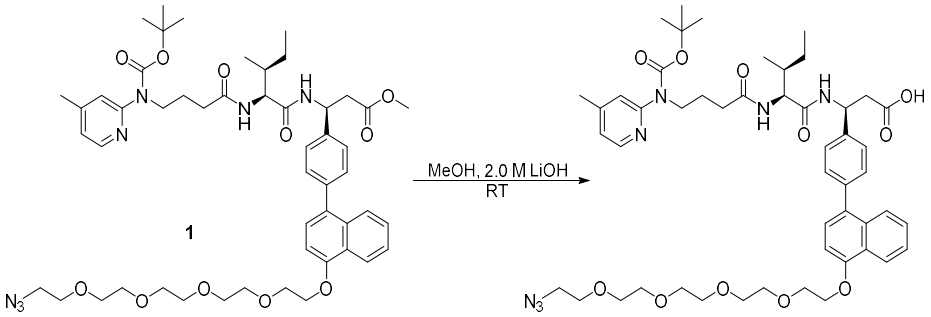
[0504] El compuesto **1** se disolvió en MeOH (4,2 mL) y a la mezcla se le añadió una solución de 2,0 mL de LiOH (8,5 mL). La reacción se agitó durante 1,5 h y se concentró para eliminar el MeOH. La mezcla se acidificó hasta un pH = 4 con $KHSO_4$ al 20% y se extrajo con EtOAc (3 x 15 mL). El compuesto orgánico combinado se lavó con salmuera (20 mL), se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró para obtener el producto como un aceite viscoso (1,6123 g, 93,4% de rendimiento en dos etapas). LC-MS: calculado $[M-H]^-$: 406,24, hallado 406,43. ^1H NMR (400 MHz, Cloroformo-*d*) δ 8,23 (d, 1H), 7,12 (d, 1H), 6,95–6,88 (m, 1H), 4,58 (dd, 1H), 3,99–3,83 (m, 2H), 2,35–2,34 (s, 3H), 2,30 (hept, 2H), 2,00–1,84 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 0,91 (m, 6H).



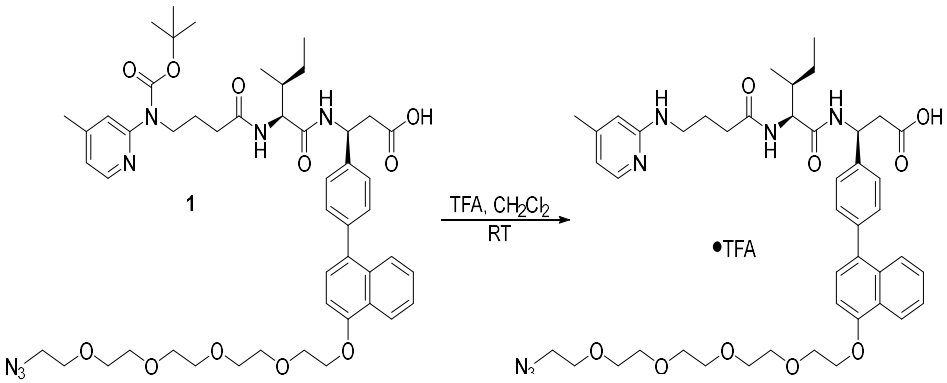
[0505] Se cambió un vial con compuesto **1** (0,200 g, 0,491 mmol, 1 eq), TBTU (0,189 g, 0,589 mmol, 1,2 eq), DMF (2,0 mL) y DIEA (0,256 mL, 1,472 mmol, 3,0 eq). La reacción se agitó durante 2 minutos antes de agregar 2 (0,246 g, 0,687 mmol, 1,4 eq). Después de completarse, la reacción se diluyó con solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (10 mL), extraído con EtOAc (3x5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El material crudo se purificó mediante cromatografía de columna, eluyendo con MeOH al 0-20% en CH_2Cl_2 para obtener el producto (0,3024 mg, 86,7% de rendimiento). LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 711,37, hallado 711,51.



[0506] A un vial que contenía compuesto **1** (0,170 g, 0,238 mmol, 1 eq) se le agregó Cs_2CO_3 (0,116 g, 0,358 mmol, 1,5 eq) y DMF (2,1 mL). Se añadió N_3-PEG5-OT (0,149 g, 0,358 mmol, 1,5 eq) a la mezcla, y la reacción se agitó a 40 °C. Después de completarse, la reacción se diluyó con EtOAc (10 mL), solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ (5 mL) y agua (5 mL). Las capas se separaron y la solución acuosa se extrajo un total de 3x10 mL con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El material crudo se purificó mediante cromatografía de columna, eluyendo con MeOH al 0-20% en CH_2Cl_2 para obtener el producto (0,1645 g, 72,1% de rendimiento). LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 956,51, hallado 956,78.



[0507] A un vial que contiene el compuesto **1** (0,164 g, 0,172 mmol, 1 eq) se le añadió MeOH (2,0 mL) y LiOH 2,0 M (3,0 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se controló por HPLC. Se requirió LiOH adicional (33 mg, 1,38 mmol, 8 eq), agua (5 mL) y MeOH (4 mL) para disolver el material e impulsar la reacción. La HPLC reveló la formación de dos nuevos picos, que se cree que son diastereómeros. Al alcanzar >94% de conversión, la reacción se concentró para eliminar MeOH, se acidificó con $KHSO_4$ al 20% hasta un pH=2. A la mezcla se le añadió EtOAc (5 mL) y agua (4 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (4x5 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (10 mL), se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron para obtener el producto (0,1417 g, 87,4%). LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 942,49, hallado 942,56.

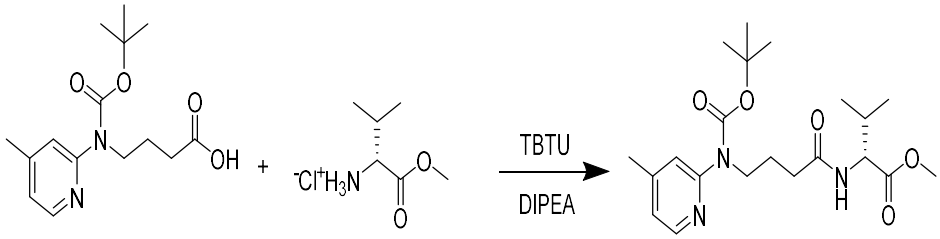


Estructura 36b

[0508] A un vial que contiene el compuesto **1** (0,1417 g, 0,1504 mmol, 1 eq) se le añadió CH_2Cl_2 (0,5 mL) y ácido trifluoroacético (1,0 mL). La solución se agitó a temperatura ambiente. Después de completarse (>97% del producto), la reacción se concentró, se evaporó conjuntamente con tolueno

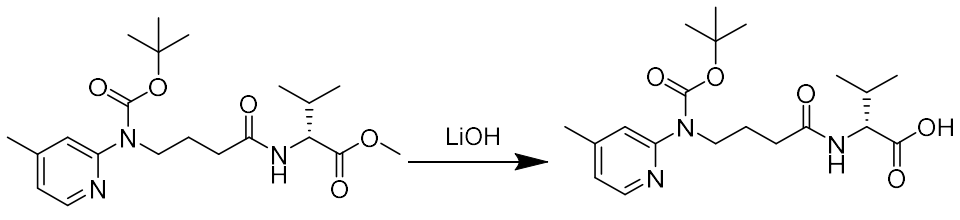
(3 mL) y luego con acetonitrilo (2x3 mL). El producto se obtuvo con TFA adicional presente (150,3 mg). Dos picos estuvieron presentes a través de la reacción tanto para el material de partida como para el producto. LC-MS: calculado $[M+H]^+$: 842,44, hallado 842,56. Se encontró que ambos picos del producto tenían la misma masa, lo que indica la presencia de diastereómeros.

Síntesis de Estructura 37b ácido ((S)-3-(4-(4-((14-azido-3,6,9,12-tetraoxatetradecil)oxi)naftalen-1-il)fenil)-3-((R)-3-metil-2-(4-((4-metilpiridin-2-il)amino)butanamido)butanamido)propanoico).



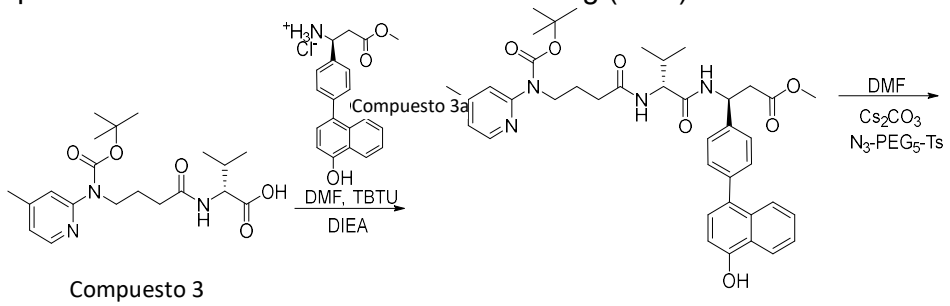
1 2

[0509] A una solución de compuesto 1 (150 mg, 0,509 mmol, 1 equiv.), compuesto 2 (94 mg, 0,560 mmol, 1,1 equiv.) y TBTU (196 mg, 0,611 mmol, 1,2 equiv.) en DMF anhidro (3 mL) se le añadió diisopropiletilamina (0,266 mL, 1,528 mmol, 3 equiv.) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante otra hora. La reacción se inactivó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (10 mL) y la fase acuosa se extrajo acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se separó mediante CombiFlash y se eluyó con metanol al 2-3% en DCM. Rendimiento: 205 mg (99%).



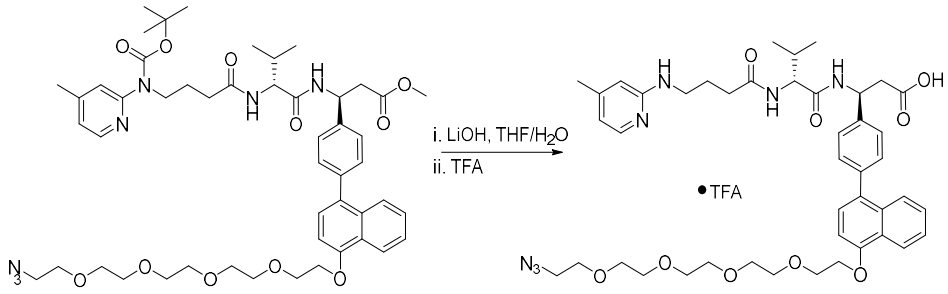
1

[0510]A una solución del compuesto 1 (207 mg, 0,508 mmol, 1 equiv.) en THF (5 mL) y H_2O (5 mL) se le añadió hidróxido de litio (36 mg, 1,523 mmol, 3 equiv.) en porciones a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla de reacción se acidificó con HCl (6 N) hasta un pH de 3,0. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 10 mL) y la capa orgánica se combinó, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. El producto se utilizó sin ninguna purificación adicional. Rendimiento: 180 mg (91%).



Compuesto 3

Compuesto 4



Compuesto 5

Estructura 37b

[0511]A una solución de compuesto 3 (180 mg, 0,46 mmol), compuesto 3a (180 mg, 0,50 mmol) y TBTU (176 mg, 0,55 mmol) en DMF (2,5 mL) se le añadió DIPEA (177 mg, 239 µL, 1,37 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada. NH_4Cl (acuosa) (1,75 mL) y agua desionizada (1,75 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (8 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 8 mL). La fase orgánica combinada se lavó con media solución saturada de Solución de NH_4Cl (ac.) (6 mL) y media solución saturada. $NaHCO_3$ (acuosa) (6 mL). La capa

orgánica se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-5% en DCM. Rendimiento del compuesto 4: 295 mg (92%). [M+H]+ calculado para $C_{40}H_{48}N_4O_7$: 697,84, hallado: 697,82.

[0512] A una solución de compuesto 4 (200 mg, 0,29 mmol) y azido-PEG_5-OT (240 mg, 0,57 mmol) en DMF anhidro (2,5 mL) se le añadió Cs_2CO_3 (187 mg, 0,57 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se desactivó con solución saturada. $NaHCO_3$ (acuosa) (15 mL) y agua desionizada (7,5 mL) y luego se extrajo con acetato de etilo (10 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 10 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-5% en DCM. Rendimiento del compuesto 5: 97 mg (36%). [M+H]+ calculado para $C_{50}H_{67}N_7O_{11}$: 943,15, hallado: 942,96.

[0513] A una solución del compuesto 5 (94 mg, 0,10 mmol) en THF (1,5 mL) y agua desionizada (1 mL) se le añadió una solución de hidróxido de litio (7,2 mg, 0,30 mmol) en agua desionizada (0,5 mL) La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora y luego se acidificó hasta un pH=3 con HCl 6 M (ac.). La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 5 mL). La fase orgánica combinada se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró. Al residuo crudo se le añadió TFA (1,34 mL) y agua (67 µL). La mezcla de reacción se revolvió durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El solvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se coevaporó con acetonitrilo:tolueno [1:1] (2 x 20 mL). La mezcla cruda se purificó mediante CombiFlash usando gel de sílice como fase estacionaria con metanol al 0-10% en DCM. Rendimiento de la estructura 37b: 44 mg (53%). [M+H]+ calculado para $C_{44}H_{57}N_7O_9$: 828,97, hallado: 828,63.

Ejemplo 2. Síntesis de ligandos de integrina αvβ6 tridentados y conjugación de ligandos de integrina αvβ6 con moléculas de carga (agentes de ARNi).

[0514] Los ligandos de integrina αvβ6 pueden conjugarse con uno o más agentes de ARNi útiles para inhibir la expresión de uno o más genes dirigidos. Los ligandos de integrina αvβ6 facilitan el suministro de los agentes de ARNi a las células y/o tejidos diana. El Ejemplo 1 anterior describió la síntesis de ciertos ligandos de integrina αvβ6 descritos aquí. A continuación, se describen los procedimientos generales para la síntesis de ciertos conjugados de ligando de integrina αvβ6-agente de ARNi que se ilustran en los ejemplos no limitantes establecidos en la presente.

[0515] A. *Síntesis de agentes de ARNi* Los agentes de ARNi pueden sintetizarse usando métodos generalmente conocidos en la técnica. Para la síntesis de los agentes de ARNi ilustrados en los Ejemplos expuestos aquí, las cadenas codificantes en sentido y antisentido de los agentes de ARNi se sintetizaron de acuerdo con la tecnología de fosforamidita en fase sólida utilizada en la síntesis de oligonucleótidos. Dependiendo de la escala, se utilizó un MerMade96E® (Bioautomation), un MerMade12® (Bioautomation) o un OP Pilot 100 (GE Healthcare). Las síntesis se realizaron sobre un soporte sólido hecho de vidrio de poro controlado (CPG, 500 Å o 600Å, obtenido de Prime Synthesis, Aston, PA, EE. UU.). Todos los fosforamiditos de ARN y ARN modificado en 2' se adquirieron de Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, EE. UU.). Específicamente, se usaron las siguientes 2'-O-metil fosforamiditas: (5′-O-dimetoxitritil-N^6-(benzoil)-2′-O-metil-adenosina-3′-O-(2-cianoetil-N,N-diisopropilamino) fosforamidita, 5′-O-dimetoxi-tritil-N^4-(acetil)-2′-O-metil-citidina-3′-O-(2-cianoetil-N,N-diisopropil-amino) fosforamidita, (5′-O-dimetoxitritil-N^2-(isobutiril)-2′-O-metil-guanosina-3′-O-(2-cianoetil-N,N-diisopropilamino) fosforamidita y 5′-O-dimetoxitritil-2′-O-metil-uridina-3′-O-(2-cianoethyl-N,N-diisopropilamino) fosforamidita. Las 2'-desoxi-2'-fluoro-fosforamiditas llevaban

los mismos grupos protectores que las 2'-O-metil ARN amiditas. Las 5′-dimetoxitritil-2′-O-metil-inosina-3′-O-(2-cianoetil-N, N-diisopropilamino) fosforamiditas se compararon de Glen Research (Virginia). Las fosforamiditas (3'-O-dimetoxitritil-2′-desoxirribosa-5'-O- (2-cianoetil-N, N-diisopropilamino) abásicas invertidas se compraron de ChemGenes (Wilmington, MA, EE. UU.). Se usaron las siguientes fosforamiditas de UNA: 5′-(4,4'-dimetoxitritil)-N6-(benzoil)-2′,3′-seco-adenosina, 2′-benzoil-3′-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita, 5′-(4,4'-dimetoxitritil)-N-acetil-2′,3′-seco-citosina, 2′-benzoil-3′-[(2-cianoetil)-(N,N-diiso-propil)]-fosforamidita, 5′-(4,4'-dimetoxitritil)-N-isobutiril-2′,3′-seco-guanosina, 2′-benzoil-3′-[(2-cianoetil)-(N,N-diisopropil)]-fosforamidita y 5′-(4,4'-dimetoxi-tritil)-2′,3′-seco-uridina, 2′-benzoil-3′-[(2-cianoetil)-(N,N- diiso-propil)]-fosforamidita. También se compararon comercialmente fosforamiditas TFA aminolink (ThermoFisher).

[0516] En algunos ejemplos, los ligandos de integrina αvβ6 descritos en la presente se conjugan con los agentes de ARNi uniendo los componentes a un andamio que incluye un grupo tri-alquino. En algunos ejemplos, el grupo tri-alquino se agrega usando una fosforamidita que contiene tri-alquino, que se puede agregar en el extremo 5’ terminal de la cadena codificante en de un agente de ARNi.

Cuando se usó en conexión con los agentes de ARNi presentados en ciertos Ejemplos en la presente, se disolvieron fosforamiditas que contienen tri-alquino en diclorometano anhidro o acetonitrilo anhidro (50 mM), mientras que todas las demás amiditas se disolvieron en acetonitrilo anhidro (50 mM) y se agregaron tamices moleculares (3Å). Se usó 5-benciltio-1H-tetrazol (BTT, 250 mM en acetonitrilo) o 5-etiltio-1H-tetrazol (ETT, 250 mM en acetonitrilo) como solución activadora. Los tiempos de acoplamiento fueron 10 min (ARN), 90 segundos (2’ O-Me) y 60 segundos (2’ F). Para introducir enlaces de fosforotioato, se empleó una solución 100 mM de 3-fenil 1,2,4-ditiazolina-5-ona (POS, obtenida de PolyOrg, Inc., Leominster, MA, EE. UU.) en acetonitrilo anhidro.

[0517] Alternativamente, cuando los ligandos de integrina αvβ6 se conjugan con los agentes de ARNi a través de un andamio de tri-alquino, en lugar de usar un enfoque de fosforamidita, se pueden introducir compuestos que contienen tri-alquino de manera post-sintética (véase, por ejemplo, la sección E a continuación). Cuando se usa en conexión con los agentes de ARNi presentados en ciertos Ejemplos expuestos en la presente, al unir un grupo tri-alquino de manera post-sintética al extremo 5' de la cadena codificante en sentido, el nucleótido terminal 5' de la cadena codificante en sentido se funcionalizó con un nucleótido que incluía una amina primaria en el extremo 5' para facilitar la unión al andamio que contiene tri-alquino. Se disolvió fosforamidita TFA aminolink en acetonitrilo anhidro (50 mM) y se añadieron tamices moleculares (3Å). Se usó 5-benciltio-1H-tetrazol (BTT, 250 mM en acetonitrilo) o 5-etiltio-1H-tetrazol (ETT, 250 mM en acetonitrilo) como solución activadora. Los tiempos de acoplamiento fueron 10 min (ARN), 90 segundos (2' O-Me) y 60 segundos (2' F). Para introducir enlaces de fosforotioato, se empleó una solución 100 mM de 3-fenil 1,2,4-ditiazolina-5-ona (POS, obtenida de PolyOrg, Inc., Leominster, MA, EE. UU.) en acetonitrilo anhidro.

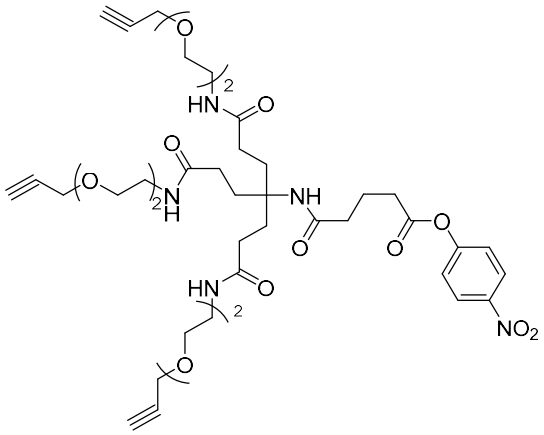
[0518] *B. Escisión y desprotección del oligómero unido al soporte.* Después de finalizar la síntesis en fase sólida, el soporte sólido seco se trató con una solución en volumen 1:1 de 40% en peso de metilamina en agua y una solución de hidróxido de amonio del 28% al 31% (Aldrich) durante 1,5 horas a 30 ° C.La solución se evaporó y el residuo sólido se reconstituyó en agua (véase a continuación).

[0519] *C. Purificación.* Los oligómeros crudos se purificaron por HPLC de intercambio aniónico usando una columna TSKgel SuperQ-5PW de 13 µm y un sistema Shimadzu LC-8. El tampón A era Tris 20 mM, EDTA 5 mM, pH 9,0 y contenía acetonitrilo al 20% y el tampón B era igual al tampón A con la adición de cloruro de sodio 1,5 M. Se registraron trazas UV a 260 nm. Las fracciones apropiadas se agruparon y luego se ejecutaron en HPLC de exclusión por

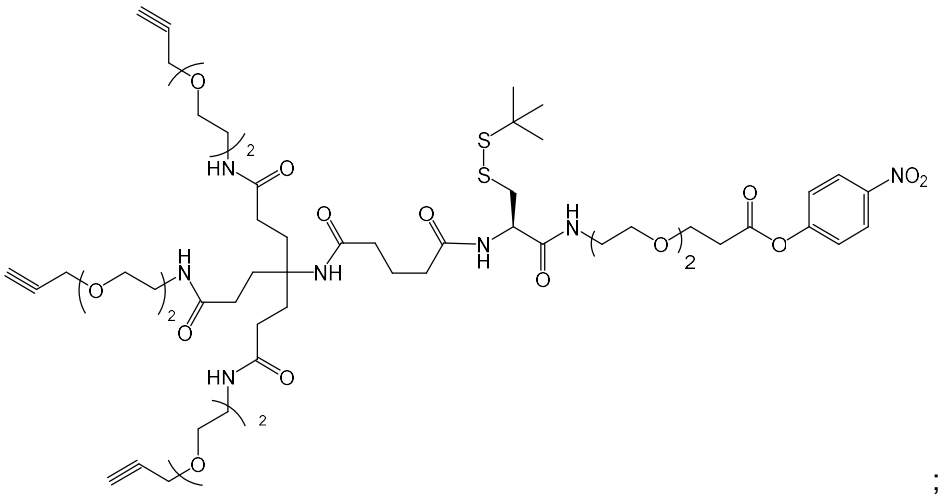
tamaño usando una columna GE Healthcare XK 16/40 rellena con Sephadex G25 fino con un tampón de bicarbonato de amonio 100 mM de pH 6,7 y acetonitrilo al 20% o agua filtrada.

[0520] *D. Hibridación.* Las cadenas complementarias se mezclaron combinando soluciones de ARN equimolar (sentido y antisentido) en 1 × PBS (solución salina tamponada con fosfato, 1×, Corning, Cellgro) para formar los agentes de ARNi. Algunos agentes de ARNi se liofilizaron y almacenaron a −15 a −25 °C. La concentración dúplex se determinó midiendo la absorbancia de la solución en un espectrómetro UV-Vis en 1 x PBS. La absorbancia de la solución a 260 nm se multiplicó luego por un factor de conversión y el factor de dilución para determinar la concentración dúplex. El factor de conversión utilizado fue 0,037 mg/(mL·cm) o, como alternativa para algunos experimentos, se calculó un factor de conversión a partir de un coeficiente de extinción determinado experimentalmente.

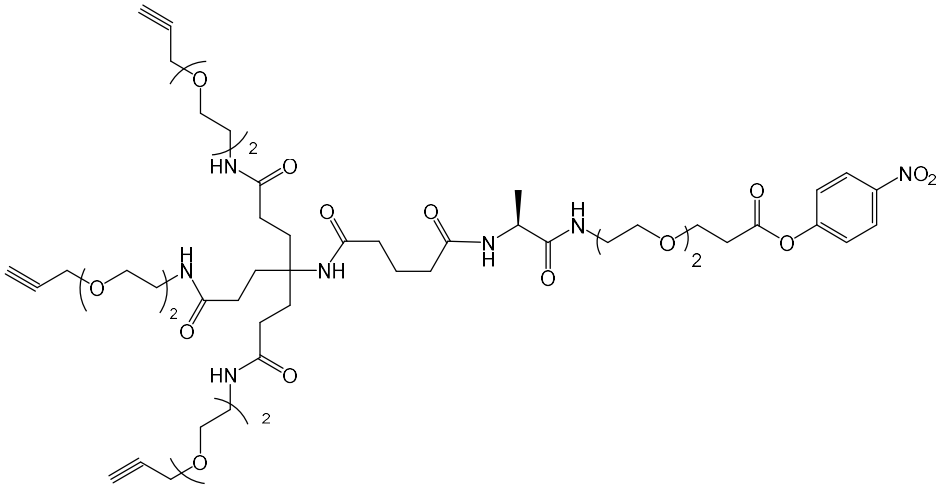
[0521] *E. Conjugación del andamio de tri-alquino.* Ya sea antes o después de la hibridación, la cadena codificante en sentido funcionalizada con amina 5′ o 3′ de un agente de ARNi puede conjugarse con un andamio de tri-alquino. Las estructuras de andamio de tri-alquino de ejemplo que se pueden usar para formar las construcciones descritas en la presente incluyen:



;



;



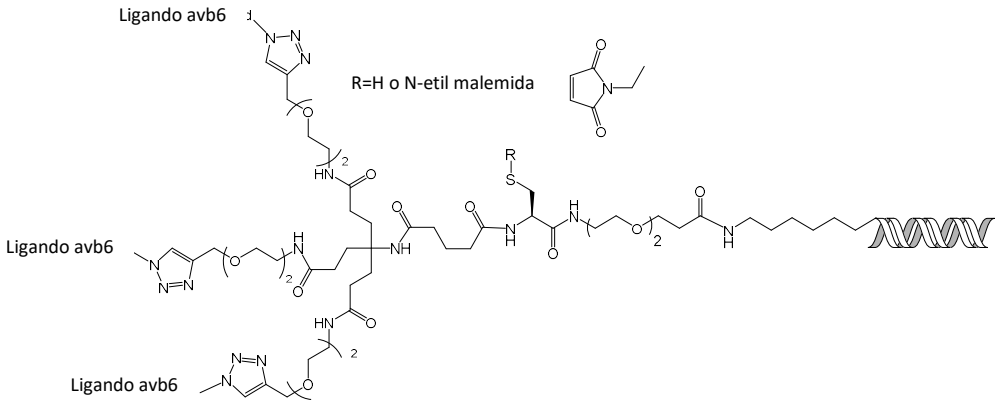
.

[0522] A continuación, se describe la conjugación del andamio de tri-alquino con dúplex hibridado: El dúplex funcionalizado con amina se disolvió en DMSO al 90%/H_2O al 10%, a ~50-70 mg/mL. Se añadieron 40 equivalentes de trietilamina, seguidos de 3 equivalentes de tri-alquino-PNP. Una vez completado, el conjugado se precipitó dos veces en un sistema de solvente de 1x solución salina/acetonitrilo tamponada con fosfato (relación 1:14), y se secó.

[0523] *F. Conjugación de ligandos de integrina αvβ6.* Ya sea antes o después de la hibridación, la cadena codificante en sentido funcionalizada con alquino tridentado 5′ o 3′ se conjuga con los ligandos de integrina αvβ6. Los siguientes ejemplos describen la conjugación de ligandos de integrina αvβ6 con

el dúplex hibridado: Se prepararon soluciones madre de Tris(3-hidroxipropiltriazolilmetil)amina (THPTA) 0,5 M, de sulfato de Cu(II) pentahidrato 0,5 M ($Cu(II)SO_4 \cdot 5\ H_2O$) y solución de ascorbato de sodio 2 M en agua desionizada. Se preparó una solución de 75 mg/mL en DMSO de ligando de integrina αvβ6. En un tubo de centrífuga de 1,5 mL que contiene un dúplex funcionalizado con tri-alquino (3 mg, 75 µL, 40 mg/mL en agua desionizada, ~15.000 g/mol), se agregan 25 µL de tampón Hepes 1 M de pH 8,5. Después de agitar en vórtex, se añadieron 35 µL de DMSO y la solución se agitó en vórtex. Se añadió ligando de integrina αvβ6 a la reacción (6 eq/dúplex, 2 eq/alquino, ~15 µL) y la solución se agitó en vórtice. Usando papel de pH, se comprobó el pH y se confirmó que era ~8. En un tubo de centrífuga separado de 1,5 mL, se mezclaron 50 µL de THPTA 0,5 M con 10 µL de $Cu(II)SO_4 \cdot 5\ H_2O$ 0,5 M, se agitó en vórtex y se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos. Después de 5 minutos, se añadió solución de THPTA/Cu (7,2 µL, 6 eq. 5:1 de THPTA:Cu) al vial de reacción, y se agitó en vórtex. Inmediatamente después, se añadió ascorbato 2 M (5 µL, 50 eq por dúplex, 16,7 por alquino) al vial de reacción y se agitó en vórtex. Una vez que la reacción se completó (típicamente se completa en 0,5-1 h), esta se purificó inmediatamente por cromatografía de intercambio aniónico no desnaturalizante.

[0524] *G. Funcionalización del grupo tiol en el conector de cisteína.* En algunos ejemplos, se puede usar un conector de cisteína para facilitar la conjugación de los ligandos de integrina αvβ6 al agente de ARNi. Ya sea antes o después de la hibridación, la cadena codificante en sentido funcionalizada con 5'o 3' de alquino-Cis (Stbu) -PEG_2 tridentado se funcionaliza con una fracción que contiene maleimida, o se puede reducir y dejar como el tiol libre, como se muestra en la siguiente estructura:



[0525] El siguiente ejemplo describe la modificación del tri-alquino-Cis(Stbu)-PEG_2-dúplex con N-etil maleimida: Tri-alquino-Cis(Stbu)-PEG_2-dúplex (35 mg) se disolvió en 500 µL de H_2O desionizada. Se añadió tampón de HEPES (1 M, pH 8,5, 82 µL) a la reacción, y la solución se agitó en vórtex. Se añadió una solución de ditiotreitol 1 M (DTT, 100 eq, 236 µL) y la solución se colocó en un agitador de vórtex durante 3 h. Después de la confirmación de la reducción del disulfuro desnaturalizando RP-HPLC, el conjugado se precipitó tres veces en un sistema de solvente de 1x solución salina/acetonitrilo tamponada con fosfato (relación 1:14). El sedimento precipitado se reconstituyó en 0,5 mL de HEPES 0,1 M, pH 6,5, y se añadió N-etil maleimida (3 mg, 10 eq) a la solución, y se colocó en un mezclador de vórtex durante ~15 min. Después de completada la reacción, el conjugado se precipitó tres veces en un sistema de solvente de 1x solución salina tamponada con fosfato/acetonitrilo (relación 1:14), se desalinizó y se secó.

Ejemplo 3. Actividad de unión a ligandos de integrina αvβ6.

[0526] Como se informa en la siguiente Tabla 1, se obtuvieron datos de unión a IC50 para los ligandos de integrina αvβ6 de las Estructuras 1 y 2:

Tabla 1. Actividad de unión a IC50.

Grupo	IC50 (nM)		
	αvβ3	***αvβ5***	***αvβ6***
Estructura 1	no activo	no activo	13
Estructura 2	no activo	no activo	129

[0527] Se examinaron las estructuras funcionalizadas con azida (es decir, las Estructuras 1b y 2b) para determinar la CI50 en condiciones típicamente usadas y conocidas en la técnica. Como se muestra en la Tabla 1, arriba, las Estructuras 1 y 2 mostraron una unión selectiva a la integrina αvβ6.

Ejemplo 4. ***Administración intratraqueal in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0528] Los agentes de ARNi que incluían una cadena codificante en sentido y una cadena antisentido se sintetizaron de acuerdo con la tecnología de fosforamidita en fase sólida de acuerdo con procedimientos generales conocidos en la técnica y usados comúnmente en la síntesis de oligonucleótidos como se expone en el Ejemplo 2 en la presente. Los agentes de ARNi incluían una cadena antisentido que tenía una secuencia de bases nitrogenadas al menos parcialmente complementaria al gen que expresa la subunidad alfa del canal de sodio epitelial sensible a la amilorida (comúnmente denominado alfa-ENaC o SCNN1A). Los agentes de RNAi alfa-ENaC se diseñaron para ser capaces de degradar o inhibir la traducción de construcciones de ARN mensajero (ARNm) de alfa-ENaC de una manera específica de la secuencia, inhibiendo así la expresión del gen alfa-ENaC. El agente de ARNi utilizado en este Ejemplo (AD04835) estaba compuesto de nucleótidos modificados y más de un enlace no fosfodiéster, e incluía las siguientes secuencias de nucleótidos:

Secuencia de cadena codificante en sentido (5’ → 3’):

(NH_2-C_6)sgscugugcaAfCfCfagaacaaauas(invAb) (SEQ ID n.°:1)

Secuencia de cadena antisentido (5’ → 3’):

cPrpusAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsc (SEQ ID n.°:2),

donde (invAb) representa un desoxirribonucleótido abásico invertido (unido a 3’-3’); s representa un enlace de fosforotioato; a, c, g y u representan 2’-O-metil adenosina, citidina, guanosina o uridina, respectivamente; Af, Cf, Gf y Uf representan 2′-fluoro adenosina, citidina, guanosina o uridina, respectivamente; cPrpu representa una 5’-ciclopropilfosfonato-2'-O-metil uridina (véase, p. ej., la Tabla A); y (NH_2-C_6) representa una amina terminal C_6 para facilitar la conjugación del ligando dirigido según se desee (véase, p. ej., la Tabla A).

[0529] Como entendería claramente un experto en la técnica, los monómeros de nucleótidos están unidos por enlaces de fosfodiéster estándar, excepto cuando la inclusión de un enlace de fosforotioato, como se muestra en las secuencias de nucleótidos modificadas descritas en la presente, reemplaza el enlace de fosfodiéster típicamente presente en un oligonucleótido.

[0530] En el día 1 y 2 del estudio, se les administró a ratas macho Sprague-Dawley una dosis de 200 microlitros por vía intratraqueal a través de un dispositivo de micropulverización (Penn Century, Philadelphia, PA), que incluía los siguientes grupos de dosificación:

(1) 5% de dextrosa en vehículo de agua (D5W);

(2) 3,0 mg/kg de un agente de ARNi alfa-ENaC (AD04835) sin ligando (“agente de ARNi desnudo”), formulado en dextrosa al 5% en agua (d5w); o

(3) 3,0 mg/kg de un agente de ARNi alfa-ENaC (AD04835) conjugado con un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1, formulado en d5w.

[0531] El mismo agente de RNAi alfa-ENaC se utilizó en los Grupos 2 y 3. Para el Grupo 3, la amina terminal (NH_2-C_6) presente en el extremo 5’ terminal de la cadena codificante en sentido de ARNi se conjugó luego con un andamio que incluía tres grupos alquino terminales. Los grupos alquino se conjugaron

luego con el grupo funcional de azida presente en la Estructura 1b, formando así un ligando de integrina αvβ6 tridentado de la Estructura 1. Los procedimientos sintéticos generales se describen en el Ejemplo 2 anterior.

[0532] Cuatro (4) ratas por grupo recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 5 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La abundancia de ARNm de alfa-ENaC se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 2. Expresión relativa de alfa-ENaC de ARNm normalizada al Control del Ejemplo 4.

Grupo	**Expresión relativa (Media geométrica)**	**Intervalo de confianza inferior/superior del 95%**
(1) Vehículo de dextrosa al 5%	1,000	0,81/1,23
(2) Agente de RNAi desnudo (sin ligando)	0,36	0,07/1,79
(3) Estructura 1 de ligando de integrina αvβ6 tridentado [(Estructura 1 de ligando de integrina αvβ6)$_3$-agente de ARNi]	0,19	0,05/0,59

[0533] Como se muestra en la Tabla 2 anterior, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 1 en forma tridentada conjugada con el agente de ARNi alfa-ENaC (es decir, Grupo 3) mostró una mayor reducción relativa del ARNm de alfa-ENaC (aproximadamente un 81% de reducción), en comparación con el

agente de ARNi desnudo (64% de reducción) sin ningún ligando (es decir, Grupo 2) y el control del vehículo, *in vivo*.

Ejemplo 5. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0534] En los siguientes ejemplos, se utilizan diversos agentes de ARNi como moléculas de carga para evaluar el suministro de una molécula de carga a través de una integrina αvβ6 a una célula de interés. Algunos de los agentes de ARNi utilizados en la presente se describen en US 62/679.549, que se incorpora en la presente como referencia en su totalidad.

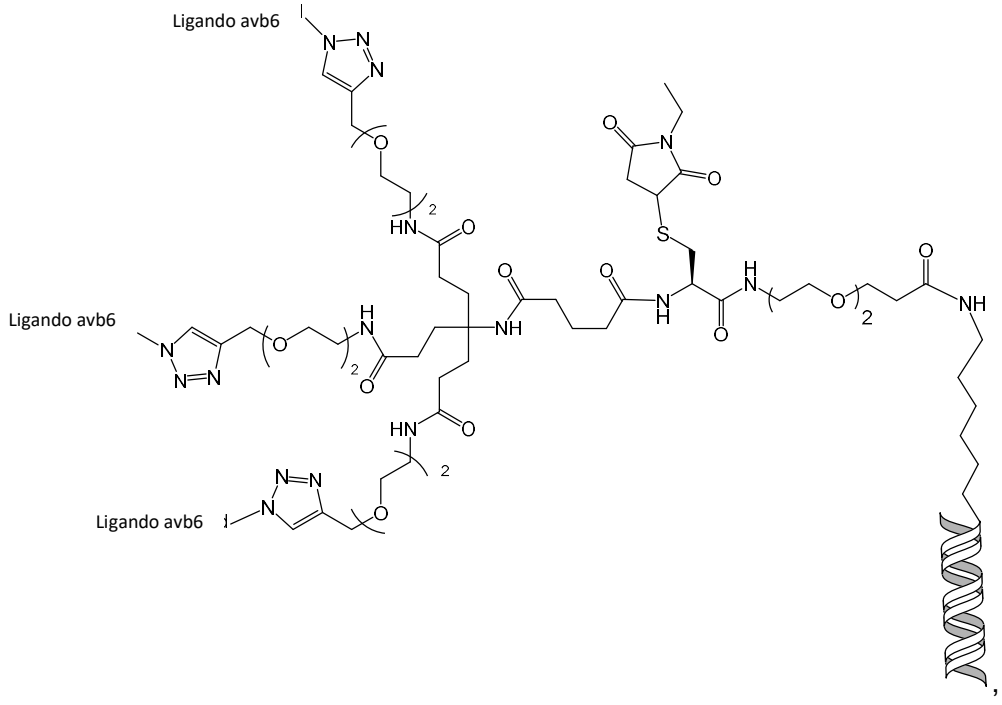
[0535] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea ("OP") con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

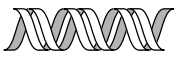
Tabla 3. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 5.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única en el día 1
2	0,5 mg/kg de un agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD04835) conjugado con el ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
3	0,5 mg/kg de un agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD04835) conjugado con el ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 5,1, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
4	0,5 mg/kg de un agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD04835) conjugado con el ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 5,2, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
5	0,5 mg/kg de un agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD04835) conjugado con el ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
6	0,5 mg/kg de un agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD04835) conjugado con el ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
7	0,5 mg/kg de un agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD04835) conjugado con el ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,2, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1

[0536] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, e incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Los respectivos ligandos de integrina αvβ6 se conjugaron luego con los agentes de ARNi mediante un andamio tridentado que incluía un conector de cisteína-n-etil-maleimida. Para los conjugados de ligando de integrina αvβ6 del agente ARNi del Ejemplo 5, el agente de ARNi, así como las estructuras de andamio/conector, fueron coherentes para cada uno de los Grupos 2-7. Por lo tanto, la única variable para los Grupos 2 a 7 fue el ligando de integrina αvβ6 específico (cada uno en forma tridentada) que se usó. Los conjugados de ligando de integrina αvβ6 del agente de ARNi del Ejemplo 5 tenían estructuras representadas por lo siguiente:



donde  representa el agente de ARNi, y "ligando avb6" representa la estructura de ligando respectiva. La estructura del agente de ARNi usado en este ejemplo (AD04835) se expone en el Ejemplo 4 anterior.

[0537] Cinco (5) ratas de cada grupo recibieron la dosis (n=5). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 4. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 5.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,195	0,243
Grupo 2 (agente de ARNi Cis-(n-ethyl-Mal)-PEG_2-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,543	0,114	0,145
Grupo 3 (agente de ARNi Cis-(n-ethyl-Mal)-PEG_2-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 5.1)	0,541	0,138	0,185
Grupo 4 (agente de ARNi Cis-(n-ethyl-Mal)-PEG_2-ligando de integrina	0,522	0,151	0,212

ID del grupo	Expresión media relativa de ARNm de rENaC	Baja (error)	Alta (error)
αvβ6 tridentado, Estructura 5.2)			
Grupo 5 (agente de ARNi Cis-(n-ethyl-Mal)-PEG_2-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6)	0,399	0,108	0,148
Grupo 6 (agente de ARNi Cis-(n-ethyl-Mal)-PEG_2-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,351	0,100	0,139
Grupo 7 (agente de ARNi Cis-(n-ethyl-Mal)-PEG_2-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.2)	0,568	0,061	0,068

[0538] Como se muestra en la Tabla 4 anterior, cada uno de los agentes de ARNi alfa-ENaC mostró una reducción en la expresión de ARNm en ratas en comparación con el control. Por ejemplo, el Grupo 6 (AD04835-tridentado-Estructura 6.1) mostró una reducción de aproximadamente el 65% (0,351) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control; el Grupo 2 (AD04835-tridentado-Estructura 2) mostró una reducción de aproximadamente el 46% (0,543) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación

con el control; y el Grupo 4 (AD04835-tridentado-Estructura 5.2) mostró una reducción de aproximadamente el 48% (0,522) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control.

Ejemplo 6. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0539] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea ("OP") con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 5. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 6.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única en el día 1
2	0,5 mg/kg de agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD05347), conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
3	0,5 mg/kg de agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD05453), conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
4	0,5 mg/kg de agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD05453), conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
5	0,5 mg/kg de agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD05453), conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
6	0,5 mg/kg de agente de ARNi bicatenario alfa-ENaC (AD05453), conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 7 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1

[0540] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, e incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Los agentes de ARNi utilizados en este Ejemplo estaban compuestos de nucleótidos modificados y más de un enlace no fosfodiéster, e incluía las siguientes secuencias de nucleótidos:

AD05347:

Secuencia de cadena codificante en sentido (5' → 3'):

(NH_2-C_6)cscugugcaAfCfCfagaacaaauas(invAb) (SEQ ID n.°:3)

Secuencia de cadena antisentido (5' → 3'):

cPrpusAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsc (SEQ ID n.°:2), y

AD05453:

Secuencia de cadena codificante en sentido (5' → 3'):

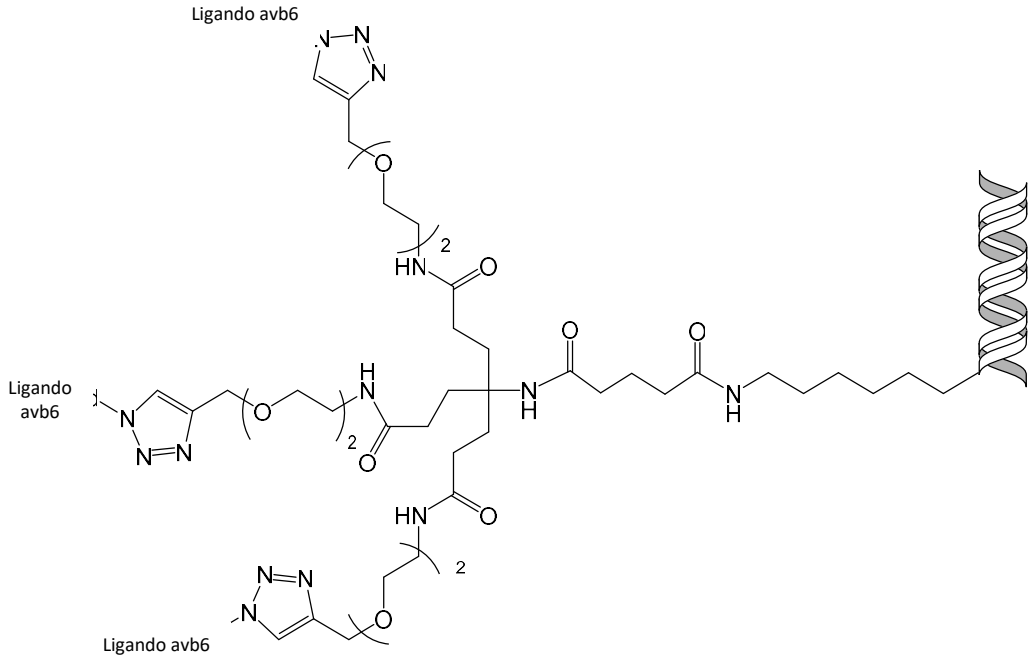
(NH2-C6)cscugugcaAfCfCfagaacaaauas(invAb) (SEQ ID n.°:3)

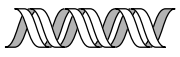
Secuencia de cadena antisentido (5' → 3'):

usAfsusUfuGfuUfcUfgGfuUfgCfaCfaGfsg (SEQ ID n.°:4),

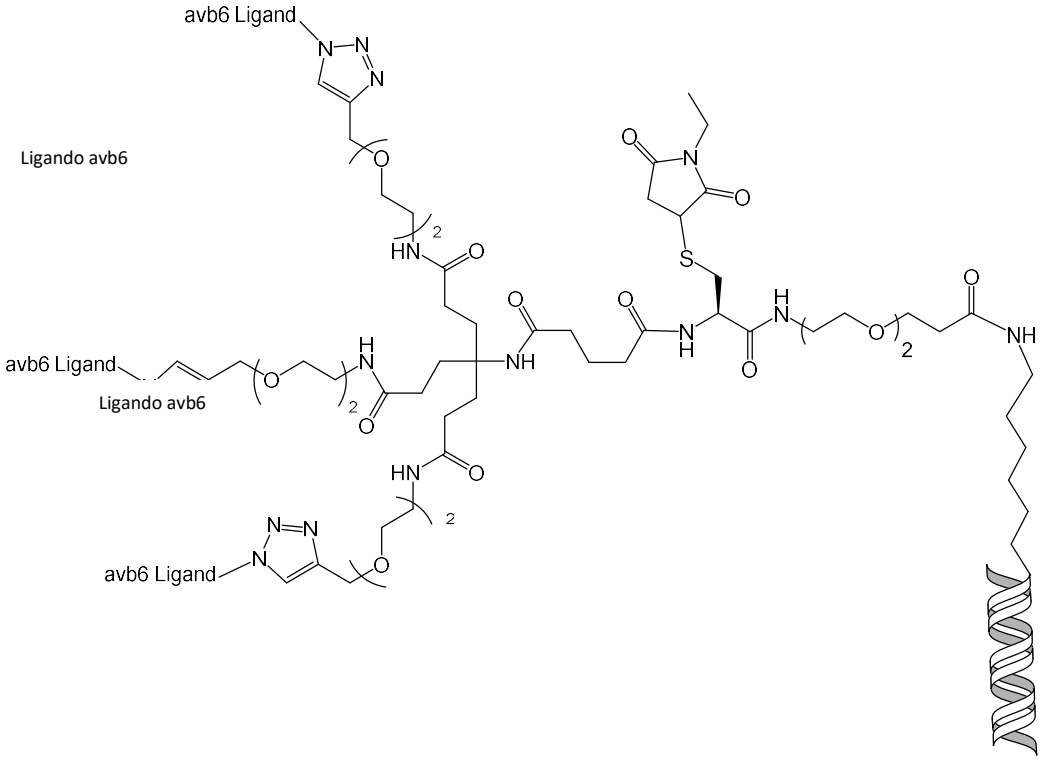
donde (invAb) representa un desoxirribonucleótido abásico invertido (unido a 3'-3'); s representa un enlace de fosforotioato; a, c, g y u representan 2'-O-metil adenosina, citidina, guanosina o uridina, respectivamente; Af, Cf, Gf y Uf representan 2′-fluoro adenosina, citidina, guanosina o uridina, respectivamente; cPrpu representa una 5'-ciclopropilfosfonato-2'-O-metil uridina (véase, p. ej., la Tabla A); y (NH_2-C_6) representa una amina terminal C_6 para facilitar la conjugación del ligando dirigido según se desee (véase, p. ej., la Tabla A).

[0541] Para los Grupos 2, 3, 4, 5 y 6, los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de una estructura de andamio/conector tridentado que incluía un conector glutárico (mediante la adición de ácido glutárico), como se representa en la siguiente Estructura 300a:



(Estructura 300a), donde  representa el agente de ARNi, y "ligando avb6" representa la estructura de ligando respectiva.

[0542] Para los Grupos 7 y 8, los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugar Ligando avb6 agentes de ARNi a través de una estructura de andamio/conector tridentado que tenía la estructura representada en la Estructura 330a:



(Estructura 330a), donde  representa el agente de ARNi, y "ligando avb6" representa la estructura de ligando respectiva.

[0543] Cuatro (4) ratas recibieron la dosis en los Grupos 1, 3, 4, 6 y 7 (n=4); cinco (5) ratas recibieron la dosis en los Grupos 5 y 8 (n=5); y tres (3) ratas recibieron la dosis en el Grupo 2 (n=3). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 6. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 6.

ID del grupo	**Número de animales (n=)**	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	4	1,000	0,137	0,159
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05347-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	3	0,486	0,090	0,110
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina	4	0,615	0,066	0,074

ID del grupo	**Número de animales (n=)**	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
αvβ6 tridentado, Estructura 2)				
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6)	4	0,512	0,119	0,156
Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado,	5	0,494	0,101	0,127

ID del grupo	**Número de animales (n=)**	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Estructura 6,1)				
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 7)	4	0,743	0,104	0,121

[0544] Como se muestra en la Tabla 6 anterior, cada uno de los agentes de ARNi alfa-ENaC mostró una reducción en la expresión de ARNm en ratas en comparación con el control. Por ejemplo, el Grupo 5 (AD05453-tridentado-ligando de integrina αvβ6, Estructura 6.1) mostró una reducción de aproximadamente el 51% (0,494) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control; y el Grupo 3 (AD05453-tridentado-ligando de integrina αvβ6, Estructura 2) mostró una reducción de aproximadamente el 38% (0,615) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control. Además, el Grupo 5 (que incluía el ligando de integrina αvβ6, Estructura 6.1) mostró una mejora con respecto al Grupo 6 (que incluía el ligando de

integrina αvβ6, Estructura 7), lo que indica una dependencia de quiralidad de (*s*), como se encuentra en la Estructura 6.1, sobre (*r*) como se encuentra en Estructura 7, para los ligandos de integrina αvβ6.

Ejemplo 7. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0545] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea ("OP") con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 7. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 7.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única en el día 1
2	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05347, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
3	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05347, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
4	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
5	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 9 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
6	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la	Dosis OP única en el día 1

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
	Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	
7	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 8 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
8	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
9	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 10 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1
10	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 11	Dosis OP única en el día 1

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
	que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	
11	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD05453 conjugado con un ligando dirigido a células epiteliales basado en péptidos tridentados a través del enlace amina (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido que además incluía una fracción de PEG de 20 kilodalton (kDa) formulada en solución salina isotónica.	Dosis OP única en el día 1

[0546] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, e incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos de los agentes de ARNi usados en este Ejemplo se exponen en el Ejemplo 6 anterior. Para los grupos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10, los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector glutárico como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior. Para el Grupo 11, los ligandos dirigidos a células epiteliales estaban compuestos por péptidos miméticos RGD que se sabe

que se unen a la integrina αvβ6 e incluían una fracción de PEG de 20 kDa como modulador farmacocinético (PK).

[0547] Cuatro (4) ratas de cada grupo recibieron la dosis (n=4). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 8. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 7.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,162	0,193
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05347-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,469	0,101	0,129
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05347-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,358	0,078	0,100
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-	0,562	0,086	0,102

glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)			
Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 9)	0,620	0,168	0,230
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6)	0,559	0,099	0,120
Grupo 7 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 8)	0,691	0,072	0,081
Grupo 8 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,1)	0,454	0,055	0,063
Grupo 9 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 10)	0,454	0,080	0,097

Grupo 10 (0,5 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 11)	0,577	0,113	0,140
Grupo 11 (0,5 mg/kg de AD05453-ligando dirigido a células epiteliales basado en péptidos tridentados-PEG de 20kDa)	0,558	0,057	0,064

[0548] Como se muestra en la Tabla 8 anterior, cada uno de los agentes de ARNi alfa-ENaC mostró una reducción en la expresión de ARNm en ratas en comparación con el control. Por ejemplo, el Grupo 3 (AD05347-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1) mostró una reducción de aproximadamente el 64% (0,358) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control; y el Grupo 8 (AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,1) mostró una reducción de aproximadamente el 55% (0,454) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control. Además, los ligandos de integrina αvβ6 en el Ejemplo 7 (es decir, Estructura 2, Estructura 6, Estructura 6.1, Estructura 8, Estructura 9, Estructura 10 y Estructura 11) mostraron niveles de reducción comparables a los del ligando dirigido a células epiteliales basado en péptidos tridentados que además incluía una fracción de PEG de 20 kilodalton relativamente voluminosa para potenciar el efecto farmacocinético del Grupo 11.

Ejemplo 8. ***Administración intratraqueal in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0549] En el día 1 y 2 del estudio, se les administró a ratas macho Sprague-Dawley una dosis de 200 microlitros por vía intratraqueal a través de un dispositivo de micropulverización (Penn Century, Philadelphia, PA), que incluía los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 9. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 8.

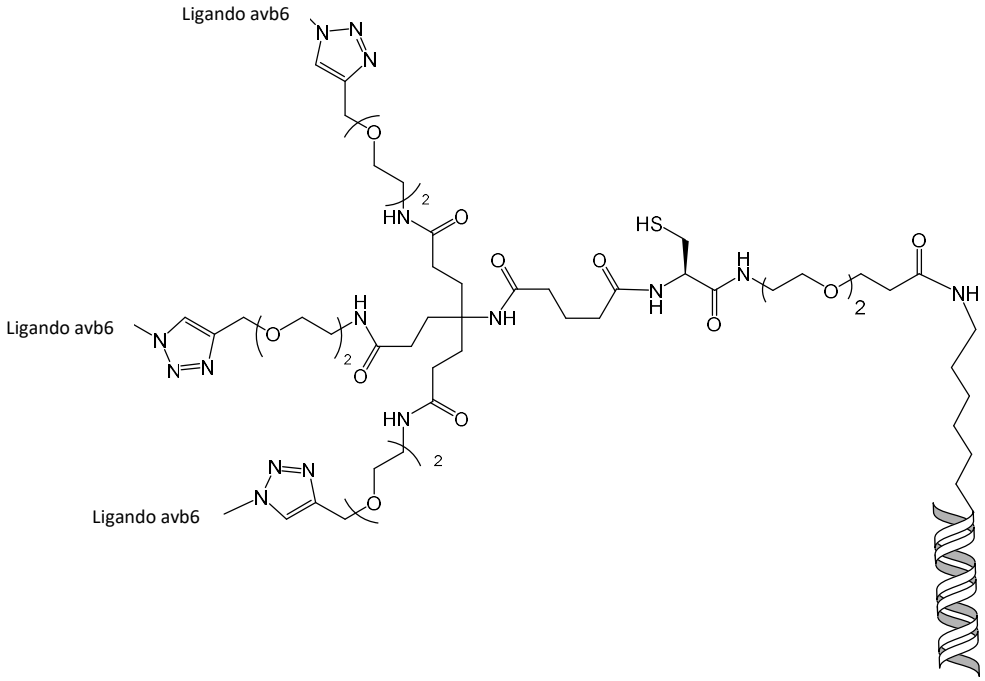
Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis IT el día 1 y el día 2
2	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835 conjugado con un ligando dirigido a células epiteliales basado en péptidos monodentados a través del enlace amina (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido que además incluía una fracción de PEG de 20 kilodalton (kDa), un conector de cisteína y un conector de péptido de FCFP formulados en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
3	0,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la	Dosis IT el día 1 y el día 2

	Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	
4	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
5	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1 que incluía un conector de cisteína-n-etil-maleimida (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 330a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
6	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835 conjugado con un ligando dirigido a células epiteliales basado en péptidos tridentados a través del enlace amina (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido que además incluía una fracción de PEG de 20 kDa y un conector de cisteína formulados en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
7	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1 que incluía un conector glutárico (es decir,	Dosis IT el día 1 y el día 2

	que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	

[0550] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, e incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos de los agentes de ARNi usados en este Ejemplo se exponen en el Ejemplo 4 anterior.

[0551] Para los grupos 3 y 4, el ligando de integrina αvβ6 de la Estructura 1 se conjugó con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado y una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la siguiente Estructura 331a:



(Estructura 331a), donde  representa el agente de ARNi, y "ligando avb6" representa la estructura de ligando respectiva.

[0552] Para el Grupo 5, los ligandos de integrina αvβ6 se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado y una estructura de conector que incluía un conector de cisteína-n-etil-maleimida como se representa en la Estructura 330a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior. Para el Grupo 7, los ligandos de integrina αvβ6 se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado y una estructura de conector que incluía un conector de ácido glutárico como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior. Para los Grupos 2 y 6, los ligandos dirigidos a células epiteliales basados en péptidos estaban compuestos por péptidos miméticos RGD e incluían una fracción de PEG de 20 kDa como modulador farmacocinético (PK).

[0553] El mismo agente de RNAi alfa-ENaC se utilizó en cada uno de los Grupos 2 a 7.

[0554] Cinco (5) ratas recibieron la dosis en cada uno de los Grupos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 (n=5), y cuatro (4) ratas recibieron la dosis en el Grupo 7 (n=4). Las ratas se sacrificaron el día 8 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 10. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 8) en el Ejemplo 8.

ID del grupo	Expresión media relativa de ARNm de rENaC	Baja (error)	Alta (error)

Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,143	0,167
Grupo 2 (1,5 mg/kg AD04835-Cis-FCFP-ligando basado en péptido monodentado-PEG20kDa)	0,354	0,078	0,100
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado de la Estructura 1)	0,695	0,215	0,312
Grupo 4 (1,5 mg/kg AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado de la Estructura 1)	0,438	0,077	0,093
Grupo 5 (1,5 mg/kg AD04835-Cis(n-etil-Mal)-ligando de integrina αvβ6 tridentado de la Estructura 1)	0,349	0,083	0,108
Grupo 6 (1,5 mg/kg AD04835-Cis-PEG20k-ligando basado en péptido tridentado)	0,643	0,070	0,079
Grupo 7 (1,5 mg/kg AD04835-glutárico-ligando de	0,648	0,184	0,256

integrina αvβ6 tridentado de la Estructura 1)			

[0555] Como se muestra en la Tabla 10 anterior, cada uno de los agentes de ARNi alfa-ENaC mostró una reducción en la expresión de ARNm en ratas en comparación con el control. Por ejemplo, el Grupo 5 (que comprende AD04835-Cis-(n-etil-Mal)-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 1) mostró una reducción de aproximadamente el 65% (0,358) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control, que fue comparable al nivel de reducción logrado en el Grupo 2, que tenía un ligando dirigido a células epiteliales basadas en péptidos que también incluía una fracción de PEG de 20 kDa como modulador farmacocinético.

Ejemplo 9. ***Administración intratraqueal in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0556] En el día 1 y 2 del estudio, se les administró a ratas macho Sprague-Dawley una dosis de 200 microlitros por vía intratraqueal a través de un dispositivo de micropulverización (Penn Century, Philadelphia, PA), que incluía los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 11. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 9.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis IT el día 1 y el día 2

2	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
3	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector glutárico (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 300a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
6	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2

[0557]Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, e incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos de los agentes de ARNi usados en este Ejemplo se exponen en el Ejemplo 4 anterior. Para los grupos 2 y 3, los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través

de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector glutárico como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior. Para el Grupo 6, los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 331a, que se muestra en el Ejemplo 8 anterior.

[0558] El mismo agente de RNAi alfa-ENaC se utilizó en cada uno de los Grupos 2 a 8.

Cinco (5) ratas recibieron la dosis en el Grupo 1 (n=5) y cuatro (4) ratas en cada uno de los Grupos 2 y 3 (n=4). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 12. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 9.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,165	0,197
Grupo 2 (1,5 mg/kg AD04835-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 1)	0,545	0,121	0,156

Grupo 3 (1,5 mg/kg AD04835-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,483	0,038	0,041
Grupo 6 (1,5 mg/kg AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,237	0,125	0,267

[0559] Como se muestra en la Tabla 12 anterior, cada uno de los agentes de ARNi alfa-ENaC mostró una reducción en la expresión de ARNm en ratas en comparación con el control. Por ejemplo, el Grupo 3 (agente de ARNi-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2) mostró una reducción de aproximadamente el 52% (0,483) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control; y el Grupo 6 (agente de ARNi-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2) mostró una reducción de aproximadamente el 76% (0,237) en la expresión promedio de ARNm de rENaC en comparación con el control.

Ejemplo 10. ***Administración intratraqueal in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0560] En el día 1 y 2 del estudio, se les administró a ratas macho Sprague-Dawley una dosis de 200 microlitros por vía intratraqueal a través de un dispositivo de micropulverización (Penn Century, Philadelphia, PA), que incluía los siguientes grupos de dosificación:

[0561] Tabla 13. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 10.

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis IT el día 1 y el día 2
2	1,0 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835 conjugado con un ligando dirigido a células epiteliales basado en péptidos monodentados a través del enlace amina (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido que además incluía una fracción de PEG de 20 kDa, un conector de cisteína y un conector de péptido de FCFP formulados en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
3	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
4	1,5 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la	Dosis IT el día 1 y el día 2

	Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	
5	1,0 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
6	0,50 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2
7	0,10 mg/kg de agente de ARNi alfa-ENaC AD04835, conjugado a un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2 que incluía un conector de cisteína (es decir, que tenía la estructura representada en la Estructura 331a), formulado en solución salina isotónica.	Dosis IT el día 1 y el día 2

[0562]Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, e incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5’ de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos de los agentes de ARNi usados en este

Ejemplo se exponen en el Ejemplo 4 anterior. Para los grupos 3, 4, 5 y 6, los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 331a, que se muestra en el Ejemplo 8 anterior. Para el Grupo 2, los ligandos dirigidos estaban compuestos por péptidos miméticos RGD e incluían una fracción de PEG de 20 kDa como modulador farmacocinético (PK) y un conector de péptido de FCFP.

[0563] El mismo agente de RNAi alfa-ENaC se utilizó en cada uno de los Grupos 2 a 7.

[0564] Cinco (5) ratas de cada grupo recibieron la dosis (n=5). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 14. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 8) en el Ejemplo 10.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,164	0,196
Grupo 2 (1,0 mg/kg AD04835-Cis-PEG20kDa-FCFP-PEG_{20}-ligando dirigido a células	0,531	0,132	0,176

epiteliales basado en péptidos)			
Grupo 3 (1,5 mg/kg de AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 1)	0,451	0,156	0,238
Grupo 4 (1,5 mg/kg AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,418	0,077	0,094
Grupo 5 (1,0 mg/kg AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,436	0,043	0,048
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,537	0,049	0,054
Grupo 7 (0,1 mg/kg AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,616	0,069	0,078

Como se muestra en la Tabla 14 anterior, cada uno de los agentes de ARNi alfa-ENaC mostró una reducción en la expresión de ARNm en ratas en comparación con el control. En particular, el Grupo 5 (1,0 mg/kg de AD04835-Cis-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2) mostró un nivel numéricamente superior de inhibición de la expresión de alfa-ENaC en

comparación con el Grupo 2 (1,0 mg/kg deAD04835-Cis-PEG20kDa-FCFP-PEG_{20}-ligando dirigido a células epiteliales basado en péptidos), a pesar de no incluir una gran fracción de PEG de 20 kilodalton como modulador farmacocinético (Grupo 5=reducción de aproximadamente el 56% (0,436); Grupo 2=reducción de aproximadamente el 47% (0,531)).

Ejemplo 11. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0565] En el día 1, 2 y 3 del estudio, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea ("OP") con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 15. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 11.

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3
2	0,01 mg/kg de AD05453 ("agente de RNAi desnudo"), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3
3	0,05 mg/kg de AD05453 ("agente de RNAi desnudo"), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP administrada en

		cada uno de los días 1, 2 y 3
4	0,15 mg/kg de AD05453 (“agente de RNAi desnudo”), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3
5	0,50 mg/kg de AD05453 (“agente de RNAi desnudo”), formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3
6	0,01 mg/kg de AD05453 conjugado con un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3
7	0,05 mg/kg de AD05453 conjugado con un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3
8	0,15 mg/kg de AD05453 conjugado con un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1, formulado en solución salina isotónica.	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3
9	0,50 mg/kg de AD05453 conjugado con un ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura	Dosis OP administrada en cada uno de los días 1, 2 y 3

	6,1, formulado en solución salina isotónica.	

[0566] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, e incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos de los agentes de ARNi usados en este Ejemplo se exponen en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0567] Cinco (5) ratas recibieron la dosis en cada uno de los Grupos 1, 3, 4, 5, 8 y 9 (n=5), y seis (6) ratas recibieron la dosis en los Grupos 2, 6 y 7 (n=6). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 16. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 11.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,199	0,249

Grupo 2 (0,01 mg/kg AD05347 (desnudo))	1,016	0,219	0,279
Grupo 3 (0,05 mg/kg AD05347 (desnudo))	0,881	0,157	0,192
Grupo 4 (0,15 mg/kg AD05347 (desnudo))	0,638	0,179	0,250
Grupo 5 (0,50 mg/kg AD05347 (desnudo))	0,354	0,076	0,097
Grupo 6 (0,01 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,1)	0,646	0,058	0,063
Grupo 7 (0,05 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,1)	0,432	0,044	0,049
Grupo 8 (0,15 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,1)	0,319	0,034	0,038

Grupo 9 (0,50 mg/kg AD05453-glutárico-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,1)	0,254	0,043	0,052

[0568] Como se muestra en la Tabla 16 anterior, cada uno de los agentes de ARNi alfa-ENaC conjugados con el ligando de integrina avb6 que tiene la Estructura 6.1 (en forma tridentada) mostró una reducción en la expresión de ARNm en ratas en comparación con el control. Además, en cada nivel de dosificación, los agentes de ARNi de alfa-ENaC conjugados con el ligando de integrina avb6 que tienen la Estructura 6.1 superaron a los agentes de ARNi de alfa-ENaC administrados desnudos, mostrando un efecto de ligando en la administración del agente de ARNi. (por ejemplo, comparar los Grupos 2 y 6; Grupos 3 y 7; Grupos 4 y 8; y Grupos 5 y 9).

Ejemplo 12. Actividad de unión adicional a ligandos de integrina αvβ6.

[0569] Como se informa en la siguiente Tabla 17, se obtuvieron datos de unión a IC50 adicionales para los ligandos de integrina αvβ6 de las Estructuras 2, 6.1, 7 y 23 utilizados en ciertos Ejemplos de la presente.

Tabla 17. Actividad de unión a IC50.

Grupo	**IC50 (nM) *αvβ6***
Estructura 2	205,4
Estructura 6,1	1,6
Estructura 7	381,5

Estructura 23	759,7

[0570] Se examinaron las estructuras funcionalizadas con azida (es decir, las Estructuras 2b y 6.1b, 7b y 23b) para determinar la CI50 en condiciones típicamente usadas y conocidas en la técnica. Como se muestra en la Tabla 17 anterior, la Estructura 6.1 mostró una potente actividad de unión a la integrina αvβ6 (IC50=1,6 nM).

Ejemplo 13. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0571] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 18. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 13.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única administrada el día 1
5	(0,5 mg/kg AD05347, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1)	Dosis OP única administrada el día 1
6	(0,5 mg/kg AD05347, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2)	Dosis OP única administrada el día 1

7	(0,5 mg/kg AD05347, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 5)	Dosis OP única administrada el día 1

[0572] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, y aquellos que incluían el dúplex de AD05347 incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6. Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05347 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0573] Cinco (5) ratas de cada grupo recibieron la dosis (n=5). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 19. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 13.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,044	0,046

Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 1)	0,449	0,088	0,109
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2)	0,487	0,049	0,055
Grupo 7 (0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 5)	0,715	0,078	0,087

Ejemplo 14. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0574] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 20. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 14.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**

1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única administrada el día 1
2	(0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 2)	Dosis OP única administrada el día 1
3	(0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6.1)	Dosis OP única administrada el día 1
4	(0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6.3)	Dosis OP única administrada el día 1
5	(0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6.4)	Dosis OP única administrada el día 1

[0575] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano, y aquellos que incluían el dúplex de AD05347 y AD05453 incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6. Las secuencias de nucleótidos de los agentes de ARNi usados en este Ejemplo se exponen en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0576] Cuatro (4) ratas de cada grupo recibieron la dosis (n=4). Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-

ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 21. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 14.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,164	0,197
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05347-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,418	0,051	0,058
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,1)	0,472	0,071	0,084
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,3)	0,534	0,059	0,066
Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6,4)	0,620	0,105	0,127

Ejemplo 15. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0577] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea ("OP") con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 22. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 15.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única administrada el día 1
4	(0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	Dosis OP única administrada el día 1
9	(0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	Dosis OP única administrada el día 1
11	(0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 12)	Dosis OP única administrada el día 1
12	(0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 13)	Dosis OP única administrada el día 1

[0578] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0579] Cuatro (4) ratas recibieron la dosis en cada uno de los grupos 1-9 y 12 (n=4). Tres (3) ratas recibieron la dosis en los grupos 10 y 11 (n=3). Las ratas se sacrificaron el día 7 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 23. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 7) en el Ejemplo 15.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,058	0,062
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-	0,606	0,217	0,338

ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)			
Grupo 9 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 2)	0,705	0,136	0,169
Grupo 11 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 12)	0,703	0,093	0,108
Grupo 12 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 13)	0,711	0,086	0,098

Ejemplo 16. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0580] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 24. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 16.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**

1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única administrada el día 1
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP única administrada el día 1
3	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 14)	Dosis OP única administrada el día 1
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 15)	Dosis OP única administrada el día 1

[0581] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0582] Cuatro (4) ratas de cada grupo recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 25. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 16.

ID del grupo	Expresión media relativa de ARNm de rENaC	Baja (error)	Alta (error)
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,084	0,092
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,597	0,163	0,224
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 14)	0,674	0,115	0,139
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 15)	0,533	0,047	0,052

Ejemplo 17. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0583] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 26. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 17.

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única administrada el día 1
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP única administrada el día 1
3	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 16)	Dosis OP única administrada el día 1
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 11)	Dosis OP única administrada el día 1

[0584] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0585] Cinco (5) ratas recibieron la dosis en cada grupo, excepto el grupo 4, que tenía dos (4) ratas que recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la

recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 27. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 17.

ID del grupo	Expresión media relativa de ARNm de rENaC	Baja (error)	Alta (error)
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,195	0,242
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,489	0,168	0,257
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 16)	0,872	0,104	0,118
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 11)	0,625	0,126	0,158

Ejemplo 18. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0586] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 28. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 18.

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única administrada el día 1
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP única administrada el día 1
3	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 17)	Dosis OP única administrada el día 1
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 15)	Dosis OP única administrada el día 1

[0587] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5’ de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una

estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0588] Cuatro (4) ratas de cada grupo recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 29. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 18.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,140	0,162
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,622	0,035	0,037
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 17)	0,818	0,101	0,116
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 15)	0,628	0,101	0,120

Ejemplo 19. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0589] En el día de estudio 1, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea ("OP") con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 30. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 19.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP única administrada el día 1
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP única administrada el día 1
3	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 15)	Dosis OP única administrada el día 1
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 18)	Dosis OP única administrada el día 1
5	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 19)	Dosis OP única administrada el día 1

6	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 20)	Dosis OP única administrada el día 1

[0590] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0591] Cuatro (4) ratas de cada grupo recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 31. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 19.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,121	0,138

Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,503	0,074	0,086
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 15)	0,700	0,079	0,089
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 18)	0,742	0,137	0,169
Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 19)	0,837	0,186	0,239
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 20)	0,589	0,078	0,090

Ejemplo 20. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0592] En los días 1 y 2 del estudio, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 32. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 20.

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
3	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 22)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 23)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
5	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 24)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
6	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 25)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
7	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 15)	Dosis OP administrada los días 1 y 2

[0593]Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron

un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0594] Cuatro (4) ratas recibieron la dosis en cada grupo, excepto el grupo 1, que tenía tres (3) ratas que recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 33. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 20.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,164	0,197
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,400	0,057	0,066
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-	0,483	0,170	0,263

ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 22)			
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 23)	0,339	0,042	0,048
Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 24)	0,493	0,125	0,168
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 25)	0,416	0,089	0,113
Grupo 7 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 15)	0,473	0,052	0,058

Ejemplo 21. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0595] En los días 1 y 2 del estudio, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 34. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 21.

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación
1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 27)	Dosis OP administrada los días 1 y 2

[0596] Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5' de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0597] Cinco (5) ratas recibieron la dosis en cada grupo, excepto el grupo 2, que tenía seis (6) ratas que recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 35. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 21.

ID del grupo	Expresión media relativa de ARNm de rENaC	Baja (error)	Alta (error)
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,150	0,176
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,380	0,108	0,151
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 27)	0,411	0,051	0,058

Ejemplo 22. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0598] En los días 1 y 2 del estudio, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 36. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 22.

Grupo	Agente de RNAi y dosis	Régimen de dosificación

1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
3	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 29)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 30)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
5	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 31)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
6	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 32)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
7	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 33)	Dosis OP administrada los días 1 y 2

[0599]Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5’ de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453

se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0600] Cuatro (4) ratas de cada grupo recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 37. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 22.

ID del grupo	**Expresión media relativa de ARNm de rENaC**	**Baja (error)**	**Alta (error)**
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,179	0,218
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,511	0,132	0,178
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 29)	0,455	0,024	0,025
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-	0,637	0,047	0,050

ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 30)			
Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 31)	0,505	0,079	0,093
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 32)	0,534	0,135	0,181
Grupo 7 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 33)	0,560	0,145	0,196

Ejemplo 23. ***Administración por aspiración bucofaríngea in vivo de agentes de ARNi dirigidos a alfa-ENaC conjugado con ligandos de integrina αvβ6 en ratas.***

[0601]En los días 1 y 2 del estudio, las ratas macho Sprague Dawley recibieron la dosis mediante administración por aspiración bucofaríngea (“OP”) con 200 microlitros usando una pipeta, de acuerdo con los siguientes grupos de dosificación:

Tabla 38. Grupos de dosificación de ratas en el Ejemplo 23.

Grupo	**Agente de RNAi y dosis**	**Régimen de dosificación**

1	Solución salina isotónica (sin agente de ARNi)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
2	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 6,1)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
3	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 29)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
4	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 34)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
5	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 35)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
6	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 36)	Dosis OP administrada los días 1 y 2
7	(0,5 mg/kg AD05453, ligando de integrina αvβ6 tridentado de Estructura 37)	Dosis OP administrada los días 1 y 2

[0602]Los agentes de ARNi se sintetizaron con secuencias de nucleótidos dirigidas al gen alfa-ENaC humano; los agentes de ARNi incluyeron un grupo reactivo de amina funcionalizado (NH_2-C_6) en el extremo terminal 5’ de la cadena codificante en sentido para facilitar la conjugación con los ligandos de integrina αvβ6 Las secuencias de nucleótidos para el agente de ARNi AD05453 se expone en el Ejemplo 6 anterior. Los ligandos de integrina αvβ6 respectivos se conjugaron con los agentes de ARNi a través de un andamio tridentado/una

estructura de conector que incluía un conector de cisteína como se representa en la Estructura 300a, que se muestra en el Ejemplo 6 anterior.

[0603] Cuatro (4) ratas de cada grupo recibieron la dosis. Las ratas se sacrificaron el día 9 del estudio, y se aisló el ARN total de ambos pulmones después de la recolección y homogeneización. La expresión de ARNm de alfa-ENaC (SCNN1A) se cuantificó mediante PCR cuantitativa basada en sonda, se normalizó a la expresión de GAPDH y se expresó como fracción del grupo de control del vehículo (media geométrica, intervalo de confianza de +/- 95%).

Tabla 39. Expresión media relativa de ARNm de rENaC en el sacrificio (Día 9) en el Ejemplo 23.

ID del grupo	Expresión media relativa de ARNm de rENaC	Baja (error)	Alta (error)
Grupo 1 (solución salina isotónica)	1,000	0,117	0,132
Grupo 2 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 6.1)	0,368	0,079	0,100
Grupo 3 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 29)	0,429	0,033	0,036
Grupo 4 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 34)	0,465	0,103	0,132

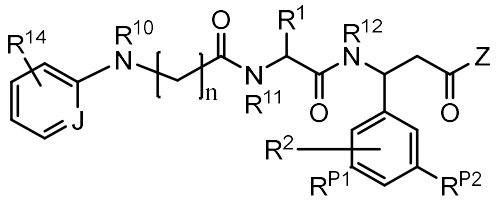
Grupo 5 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 35)	0,449	0,053	0,060
Grupo 6 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 36)	0,501	0,043	0,047
Grupo 7 (0,5 mg/kg AD05453-ligando de integrina αvβ6 tridentado, Estructura 37)	0,443	0,049	0,055

OTRAS REALIZACIONES

[0604] Debe entenderse que, si bien la invención se ha descrito junto con una descripción detallada de esta, la descripción anterior pretende ilustrar y no limitar el alcance de la invención, que se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas. Otros aspectos, ventajas y modificaciones están dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un ligando de integrina αvβ6 que comprende la estructura:



(Fórmula I),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 0 a 7;

J es C-H o N;

Z es OR^{13}, $N(R^{13})_2$ o SR^{13};

R^1 es H, opcionalmente sustituido con C_1-C_6 alquilo, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6, o R^1 comprende una molécula de carga, donde cada R^5 es independientemente H o C_1-C_6 alquilo, y R^6 es H o C_1-C_6 alquilo;

R^2, R^{P1} y R^{P2} son cada uno de manera independiente H, halo, cicloalquileno sustituido opcionalmente, arileno sustituido opcionalmente, heterocicloalquileno sustituido opcionalmente o heteroarileno sustituido opcionalmente, o R^2, R^{P1} y R^{P2} pueden comprender una molécula de carga;

R^{10} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{11} es H o alquilo opcionalmente sustituido, o R^{11} y R^1 junto con los átomos a los que están unidos forman un heterociclo opcionalmente sustituido;

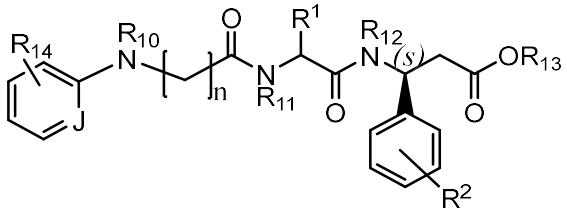
R^{12} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

cada R^{13} es independientemente H, alquilo opcionalmente sustituido, o R^{13} comprende una molécula de carga;

R^{14} es alquilo opcionalmente sustituido; y

donde al menos uno de R^1, R^2, R^{13}, R^{P1} y R^{P2} comprende una molécula de carga.

2. Un ligando de integrina αvβ6 que comprende la estructura:



(Fórmula II),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 0 a 7 (es decir, n es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7);

J es C-H o N;

R^1 es H, C_1-C_6 alquilo, $CH(R^3)(R^4)$, OH, COOH, $CH_2CH_2CH_2NH_2$, $CONHR^5$, OR^6, o R^1 comprende una molécula de carga, donde R^3 es H o C_1-C_6 alquilo, R^4 es H, C_1-C_6 alquilo, R^5 es H o C_1-C_6 alquilo y R^6 es H o C_1-C_6 alquilo;

R^2 es cicloalquileno opcionalmente sustituido, arileno opcionalmente sustituido, heterocicloalquileno opcionalmente sustituido, heteroarileno opcionalmente sustituido o R^2 comprende una molécula de carga,

R^{10} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{11} es H o alquilo opcionalmente sustituido, o R^{11} y R^1 junto con los átomos a los que están unidos forman un heterociclo opcionalmente sustituido;

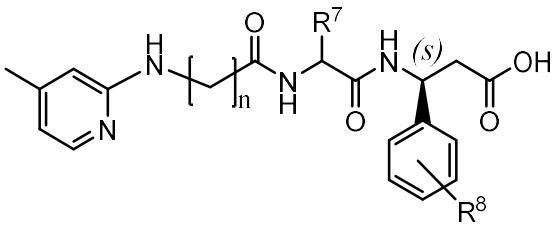
R^{12} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{13} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{14} es alquilo opcionalmente sustituido;

donde al menos uno de R^1 o R^2 comprende una molécula de carga.

3. Un ligando de integrina αvβ6 de la reivindicación 1 que comprende la estructura:



(Fórmula III),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

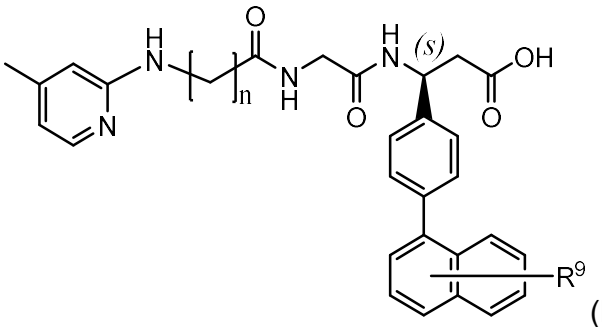
donde,

n es un número entero de 1 a 7 (es decir, n es 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7);

R^7 incluye una o más moléculas de carga; y

R^8 es uno o más fracciones cíclicas divalentes opcionalmente sustituidas que tienen 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 átomos de carbono, tales como cicloalquilo (p. ej., ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo), cicloalquenilo (p. ej., ciclopentenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo o cicloheptenilo), arilo (p. ej., fenilo), heteroarilo (p. ej., piridilo, pirimidinilo, piridazinilo, pirrol, pirazol, imidazol, tiofeno, benzotio, tiofeno, benzotio, tiofeno, benzotio , isoxazol, benzofurano, indol, indazol, bencimidazol, oxadiazol, 1,2,3-triazol, 1,2,4-triazol, tetrazol, quinolinilo, isoquinolinilo o quinoxalinilo), o heterociclilo (p. ej., tetrahidrofurano, tetrahidropirano, piperidina, pirrolidina, dioxano o dioxolano).

4. Un ligando de integrina αvβ6 de la reivindicación 1 que comprende la estructura:



(Fórmula IV)

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde,

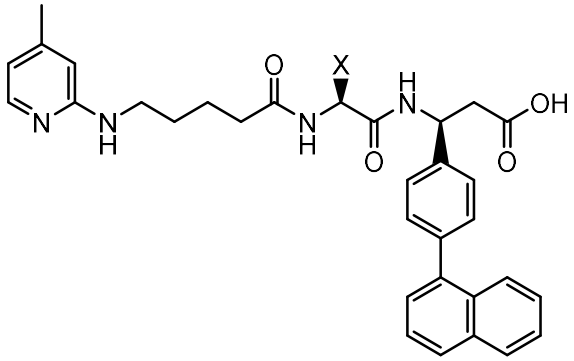
n es un número entero de 1 a 7 (es decir, n es 1, 2, 3, 4, 5, 6 o 7); y

R^8 comprende una o más moléculas de carga.

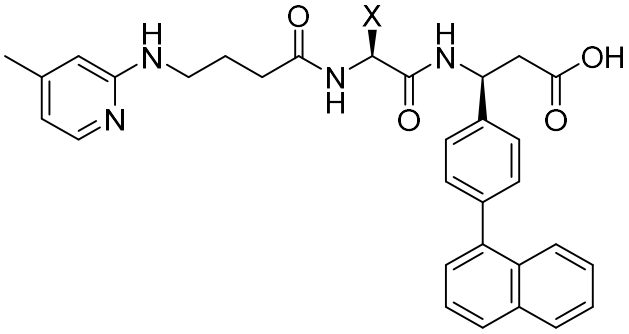
5. El ligando de integrina αvβ6 de cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde n es 3.

6. El ligando de integrina αvβ6 de cualesquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde n es 4.

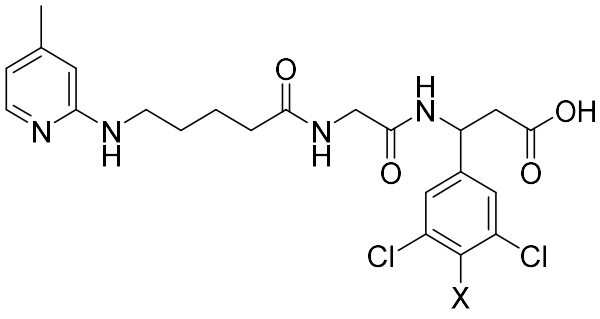
7. Un ligando de integrina αvβ6 se selecciona del grupo que consiste en:



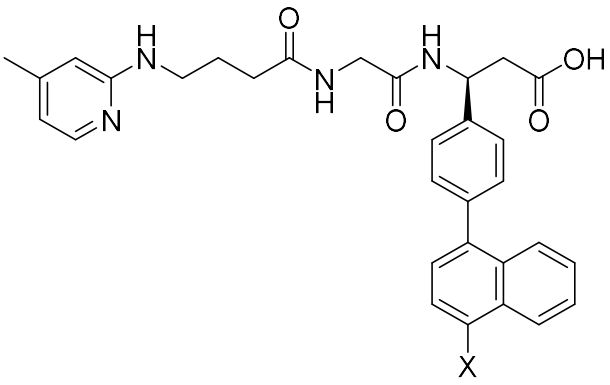
(Estructura 1a),



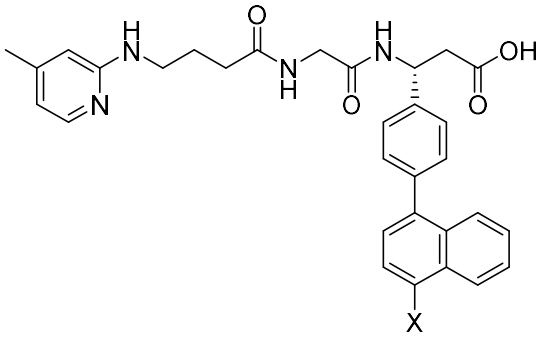
(Estructura 2a),



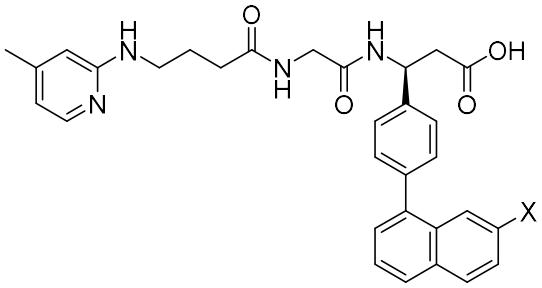
(Estructura 5a),



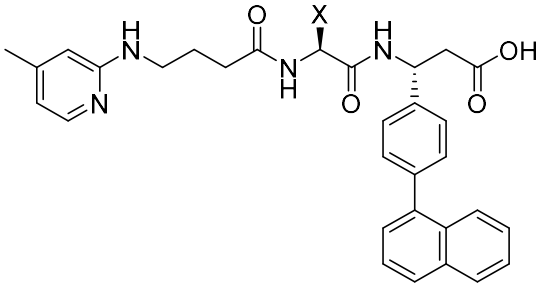
(Estructura 6a),



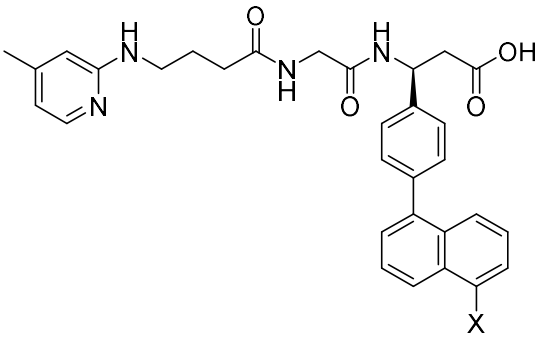
(Estructura 7a),



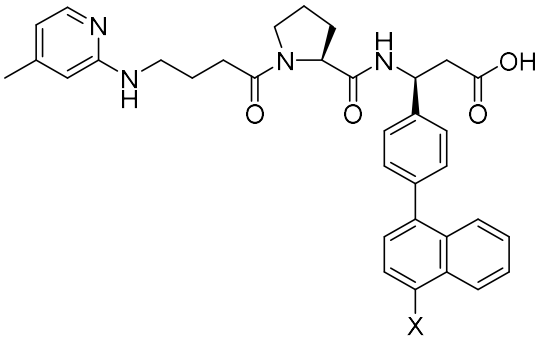
(Estructura 8a),



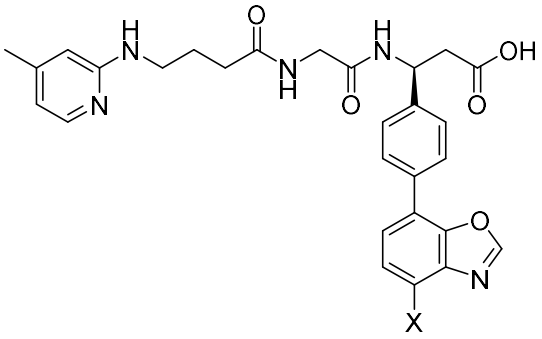
(Estructura 9a),



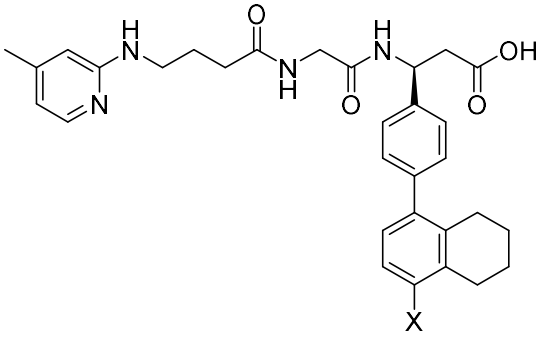
(Estructura 10a),



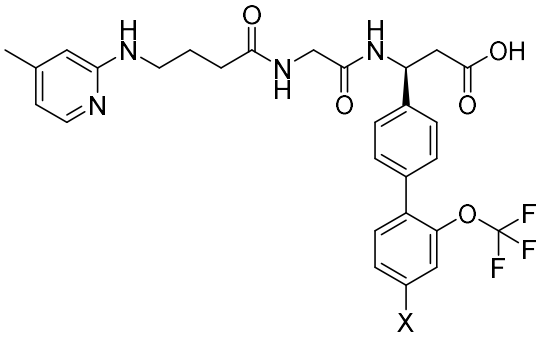
(Estructura 11a),



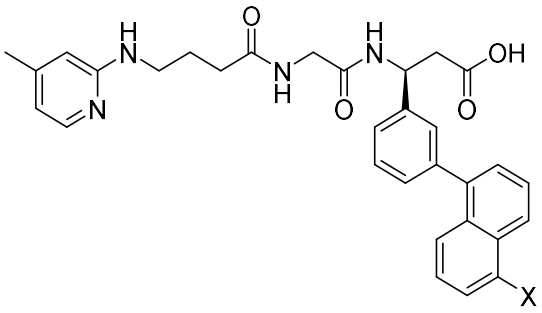
(Estructura 12a),



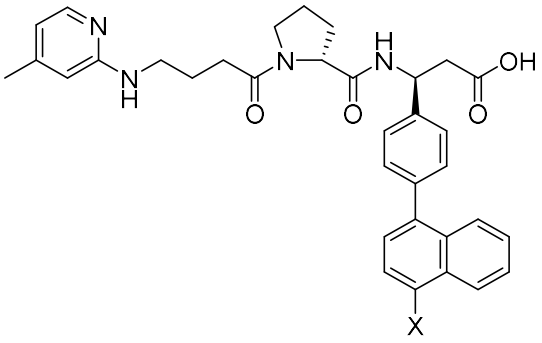
(Estructura 13a),



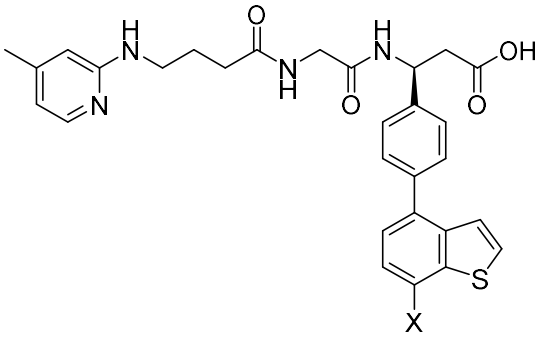
(Estructura 14a),



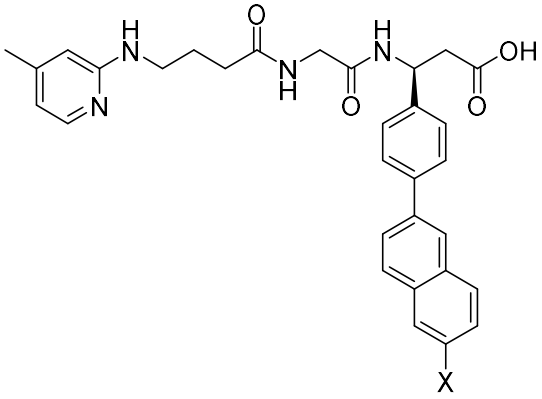
(Estructura 15a),



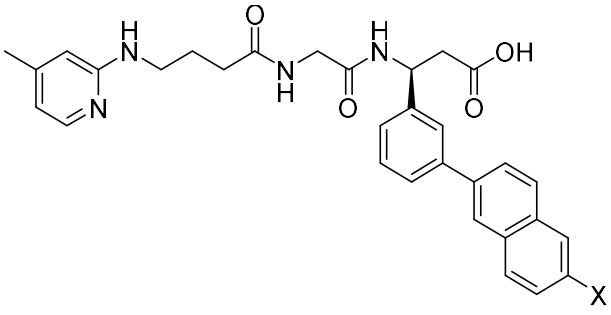
(Estructura 16a),



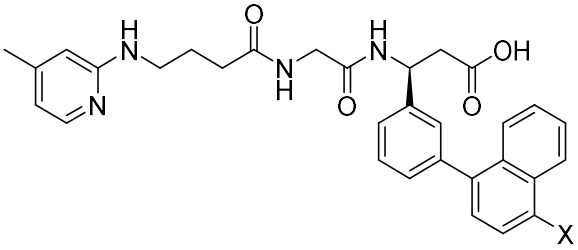
(Estructura 17a),



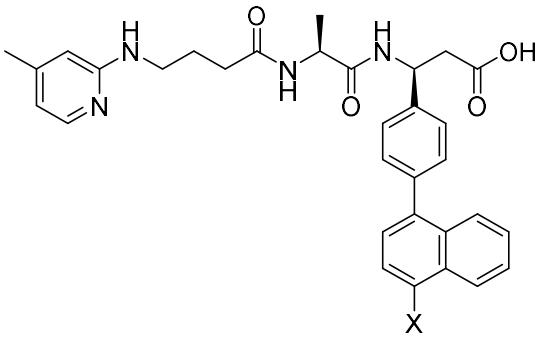
(Estructura 18a),



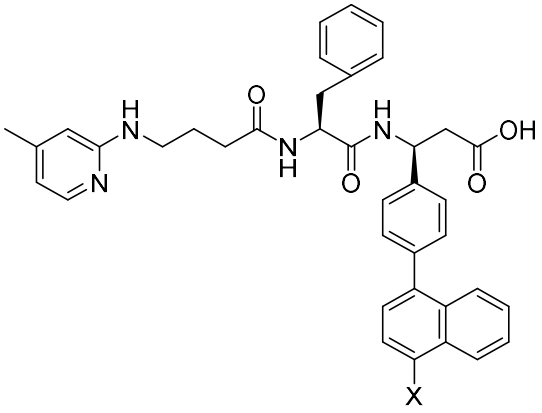
(Estructura 19a),



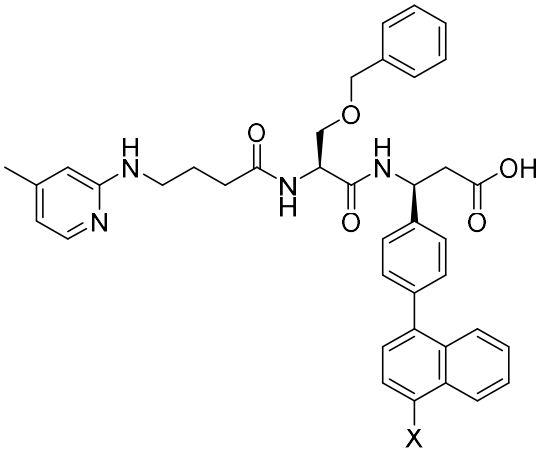
(Estructura 20a),



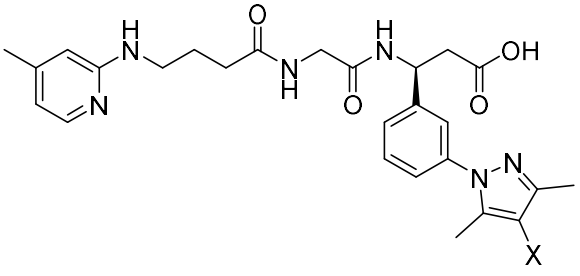
(Estructura 22a),



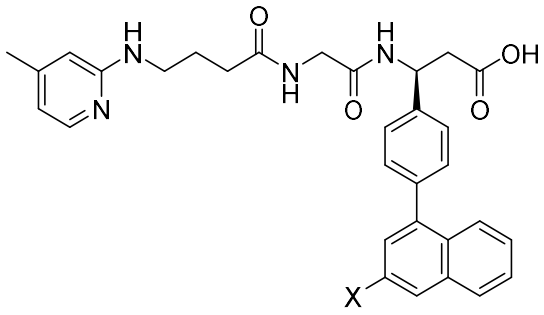
(Estructura 24a),



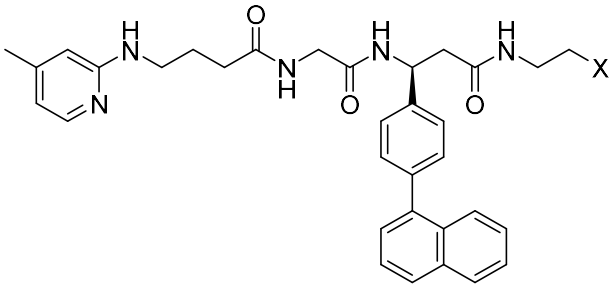
(Estructura 25a),



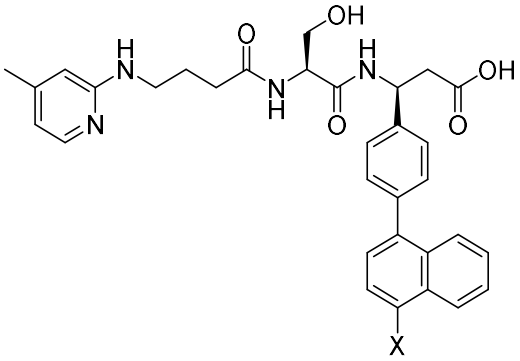
(Estructura 27a),



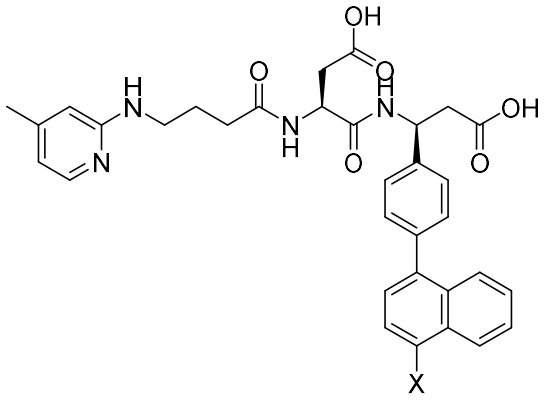
(Estructura 29a),



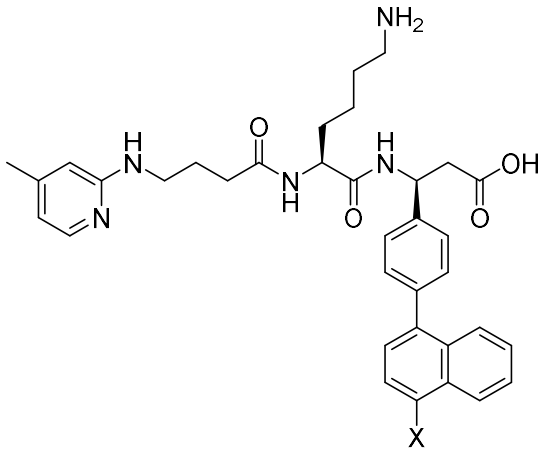
(Estructura 30a),



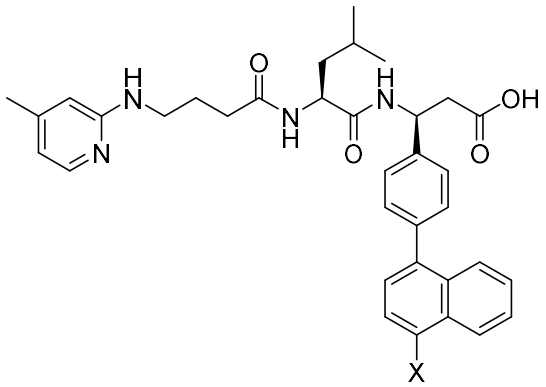
(Estructura 31a),



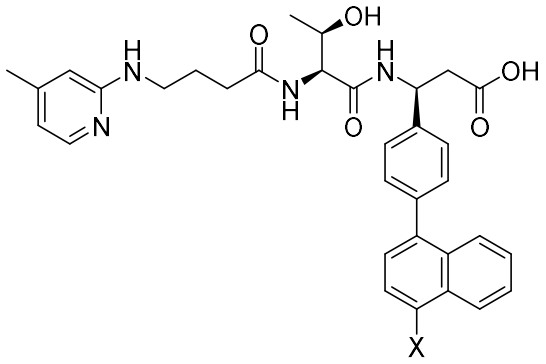
(Estructura 32a),



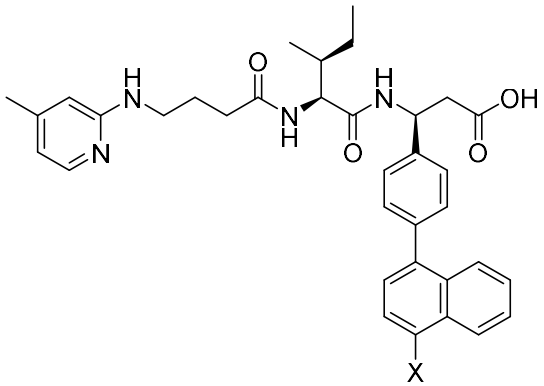
(Estructura 33a),



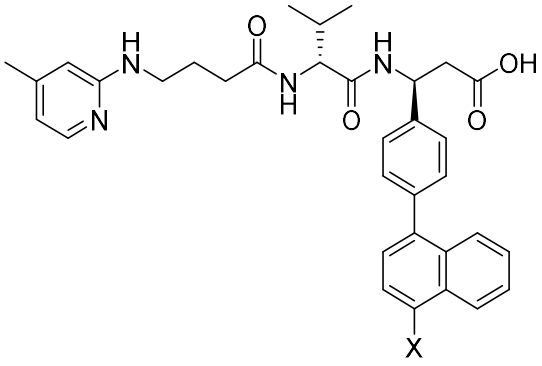
(Estructura 34a),



(Estructura 35a),



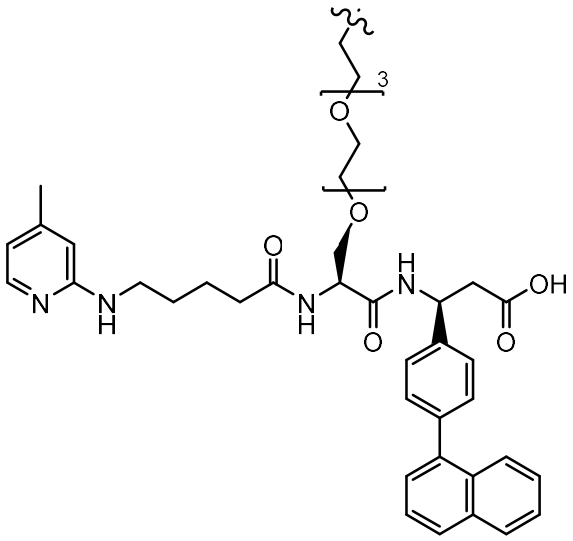
(Estructura 36a), y



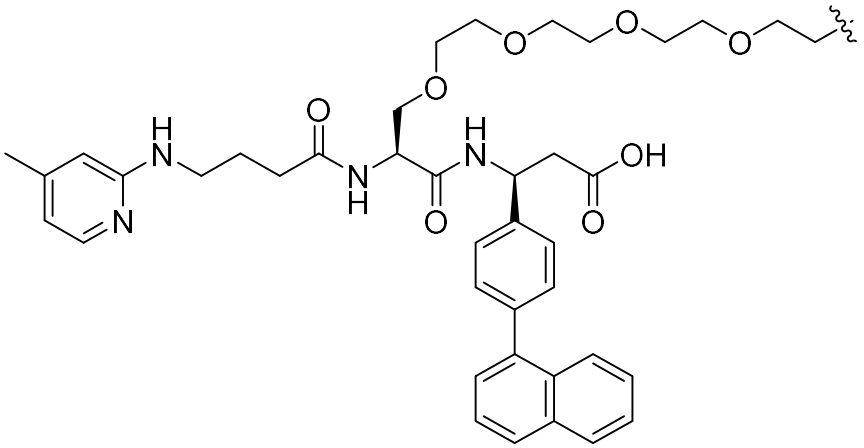
(Estructura 37a),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este, donde X comprende una molécula de carga.

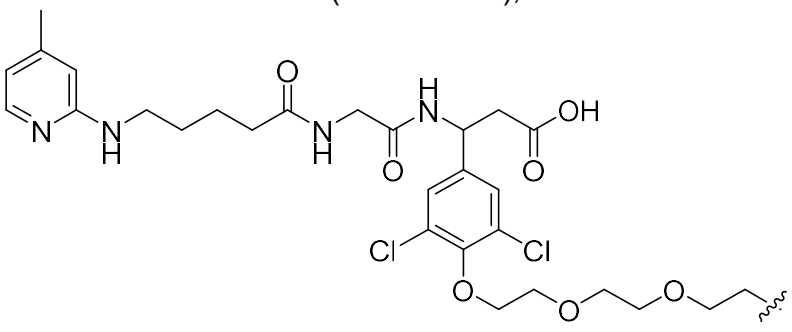
8. Un ligando de integrina αvβ6 se selecciona del grupo que consiste en:



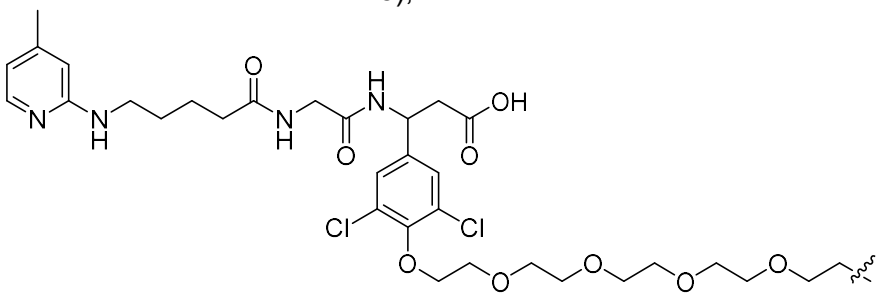
(Estructura 1);



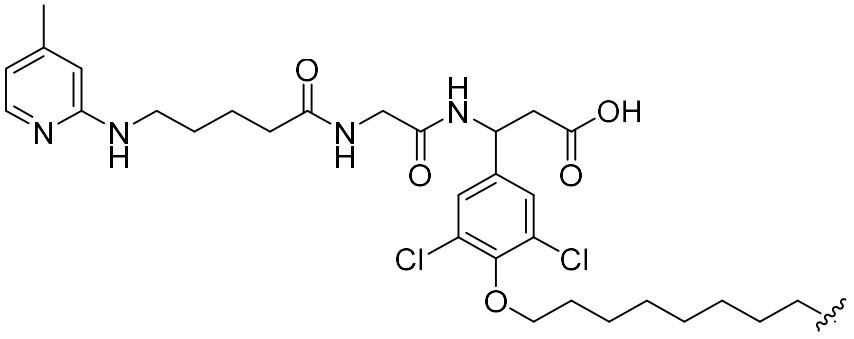
(Estructura 2);



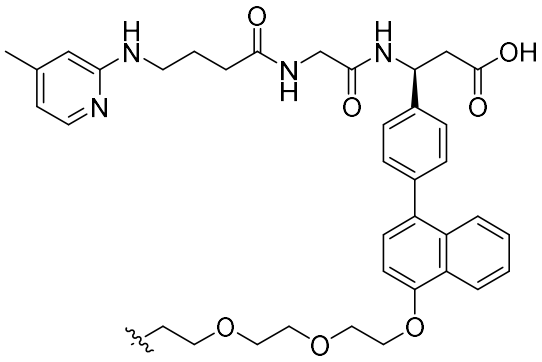
(Estructura 5);



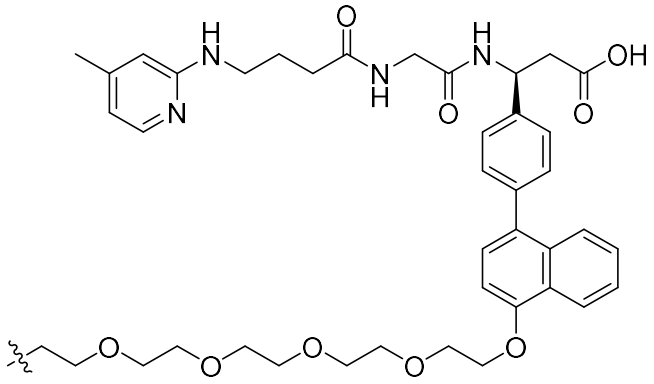
(Estructura 5.1);



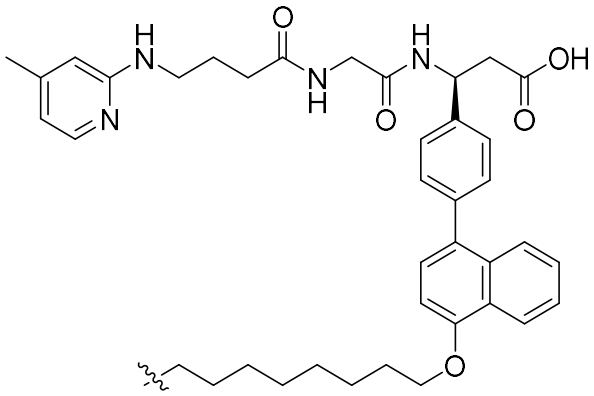
(Estructura 5,2);



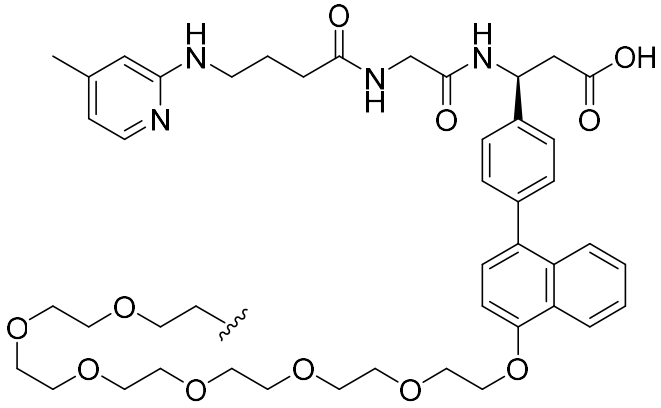
(Estructura 6);



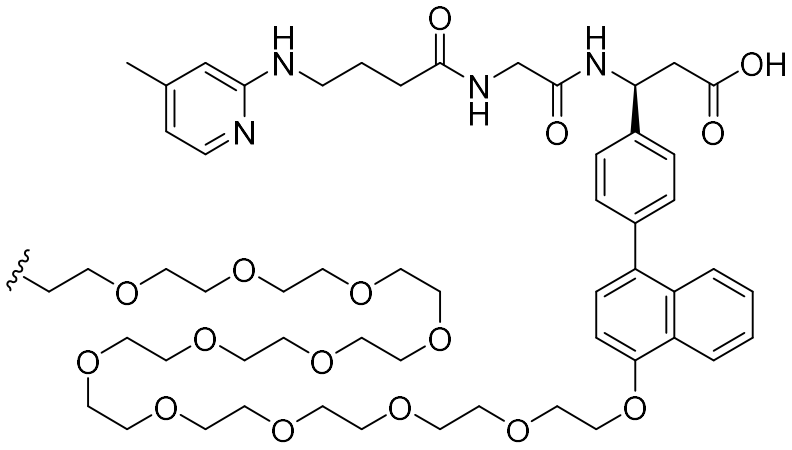
(Estructura 6,1);



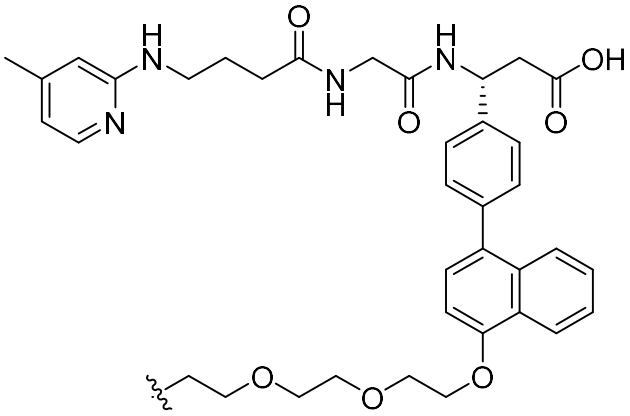
(Estructura 6,2);



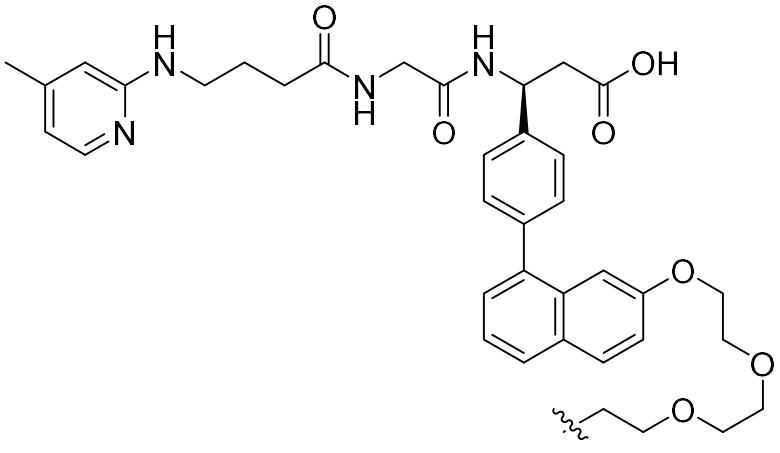
(Estructura 6,3);



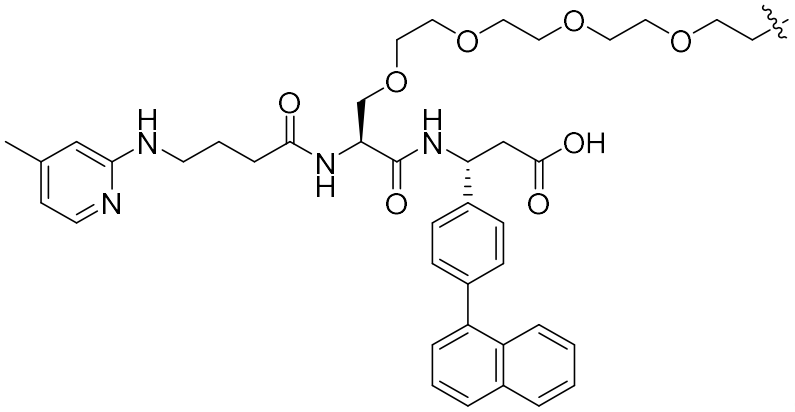
(Estructura 6,4);



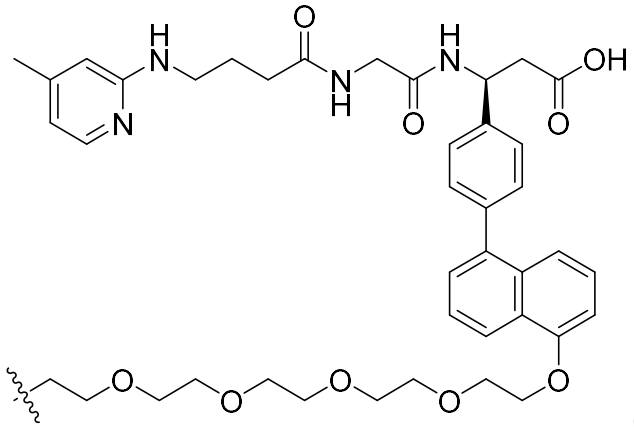
(Estructura 7);



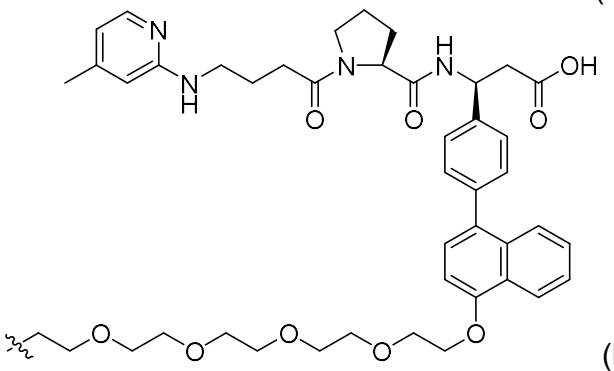
(Estructura 8);



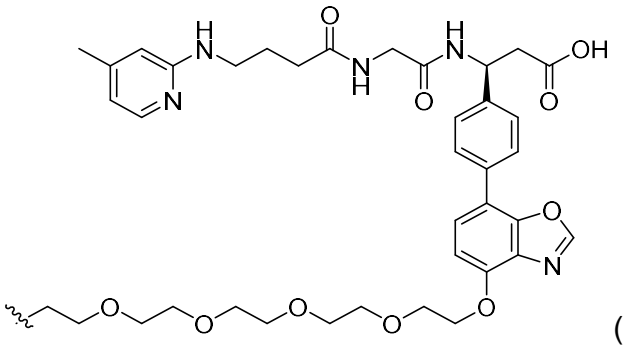
(Estructura 9);



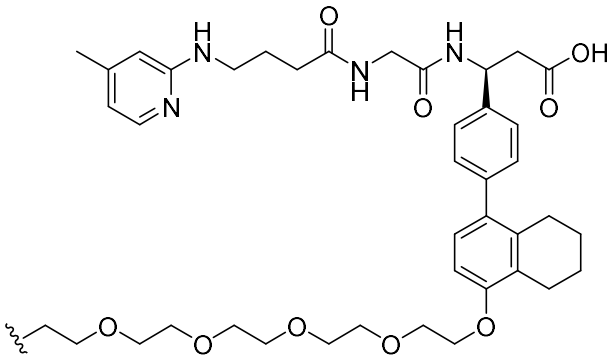
(Estructura 10);



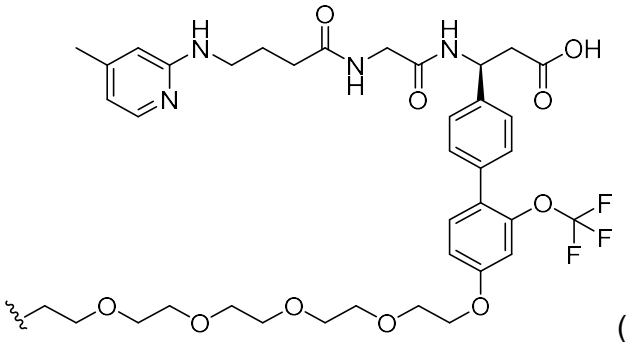
(Estructura 11);



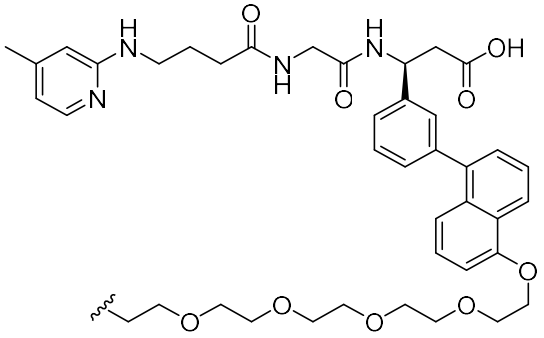
(Estructura 12);



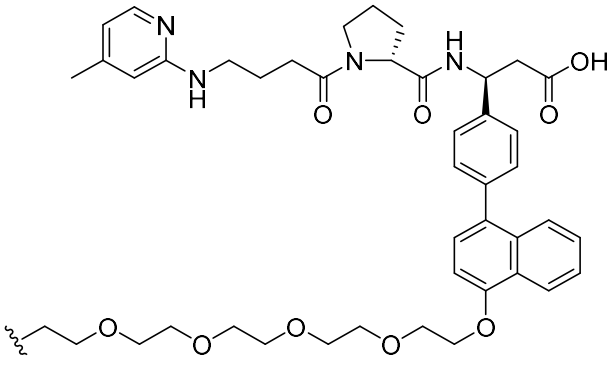
(Estructura 13);



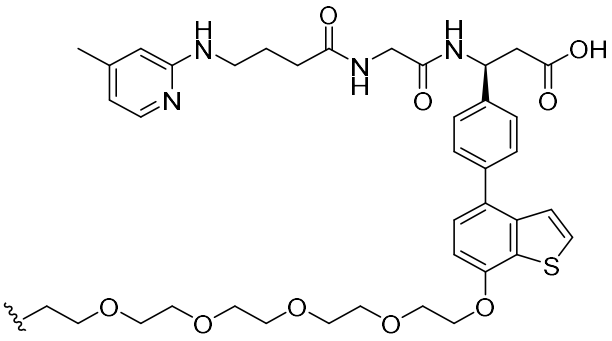
(Estructura 14);



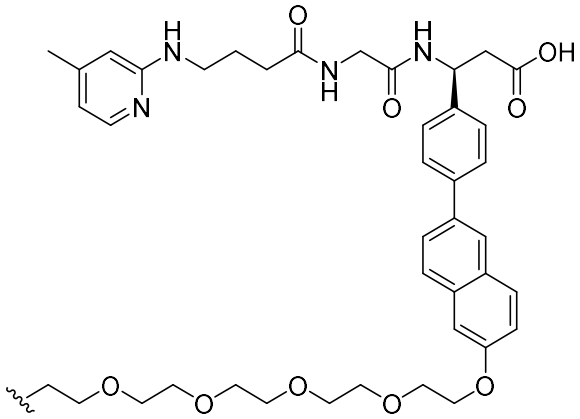
(Estructura 15);



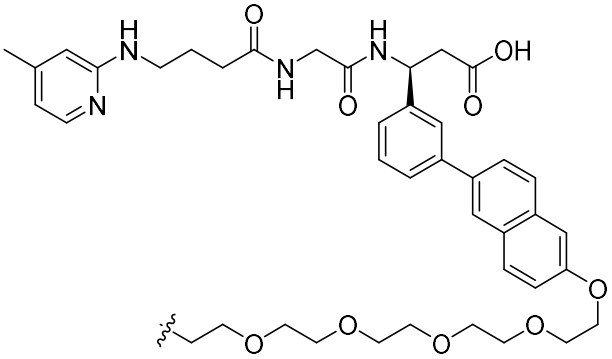
(Estructura 16);



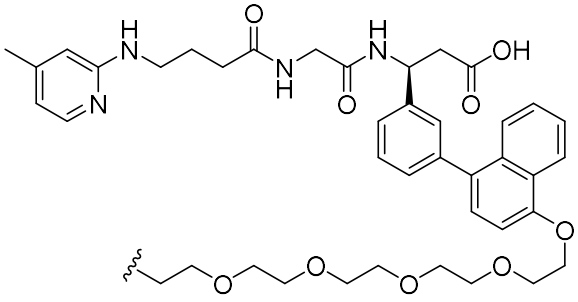
(Estructura 17);



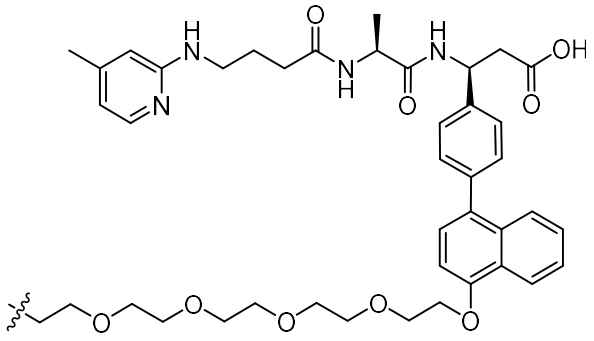
(Estructura 18);



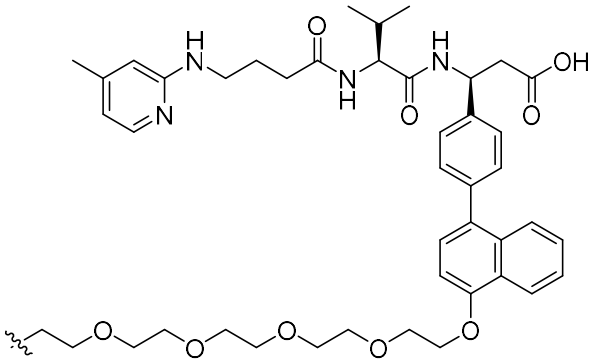
(Estructura 19);



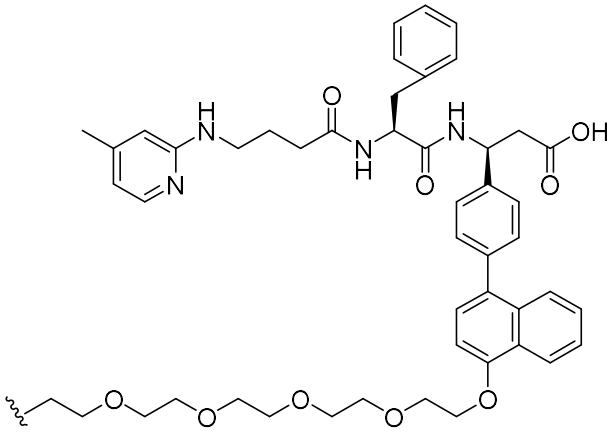
(Estructura 20);



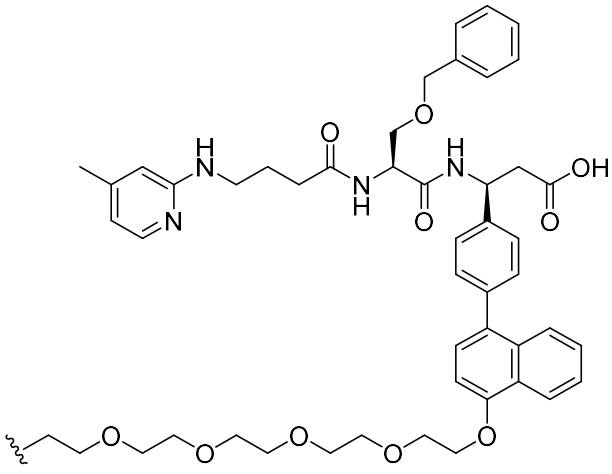
(Estructura 22);



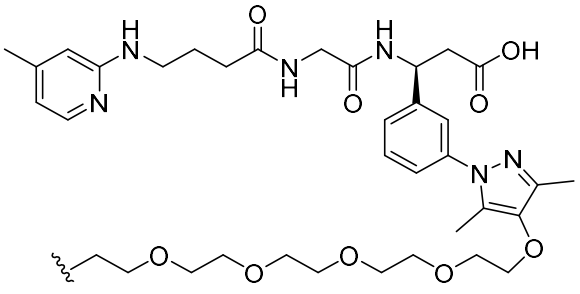
(Estructura 23);



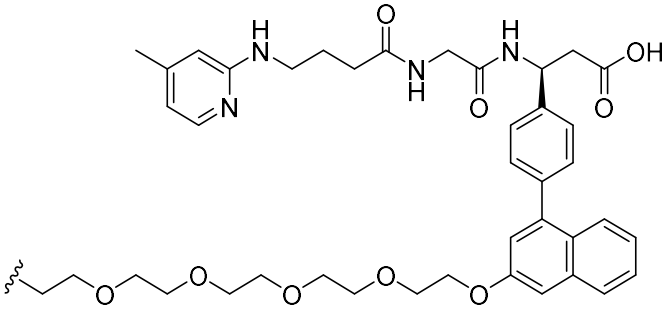
(Estructura 24);



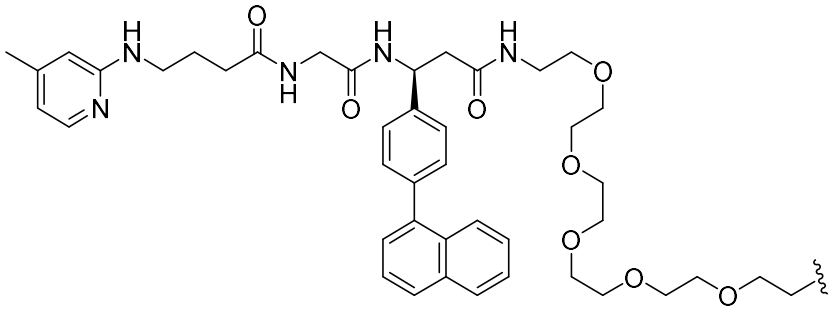
(Estructura 25);



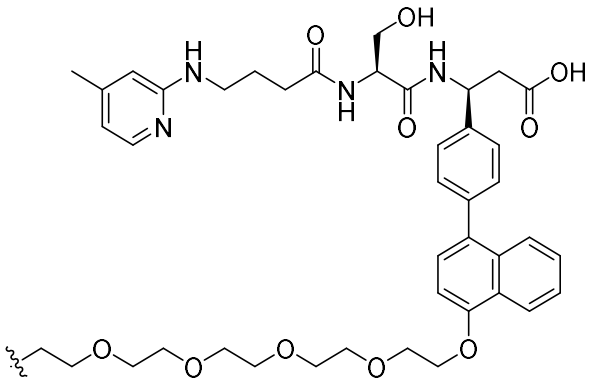
(Estructura 27);



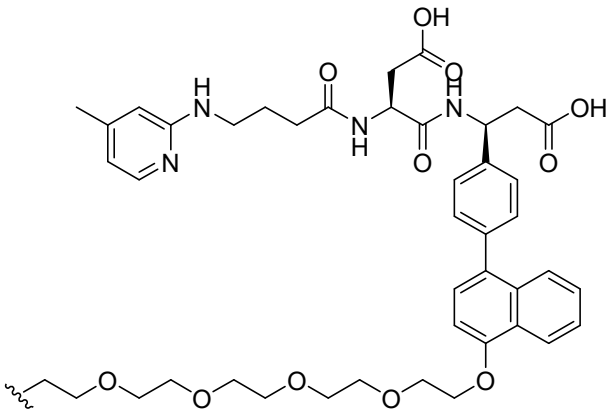
(Estructura 29);



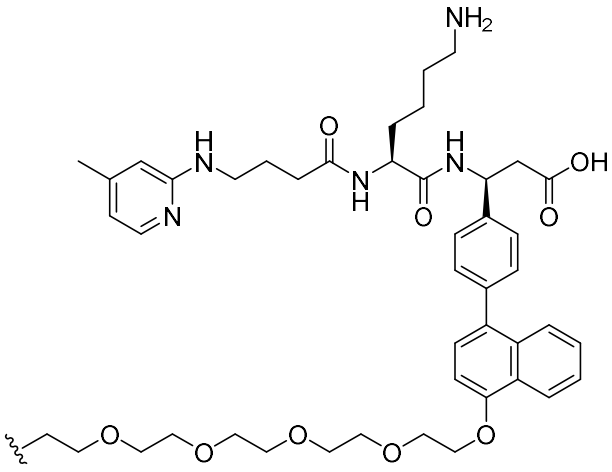
(Estructura 30);



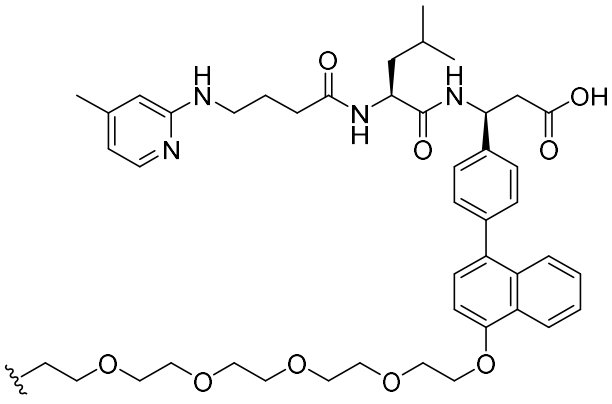
(Estructura 31);



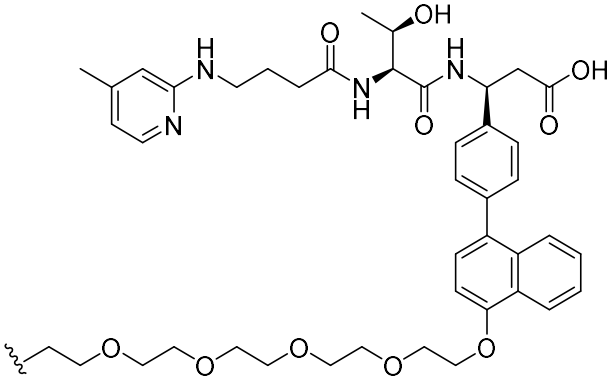
(Estructura 32);



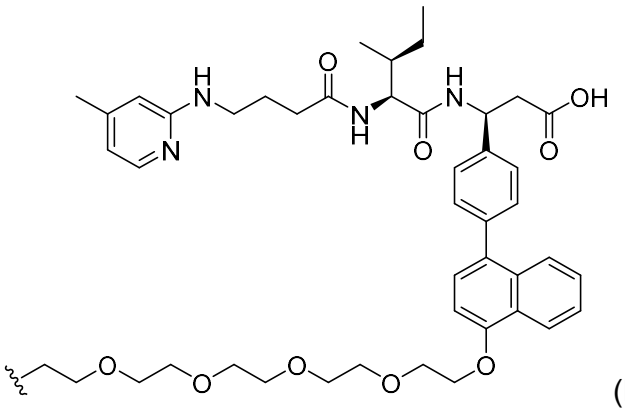
(Estructura 33);



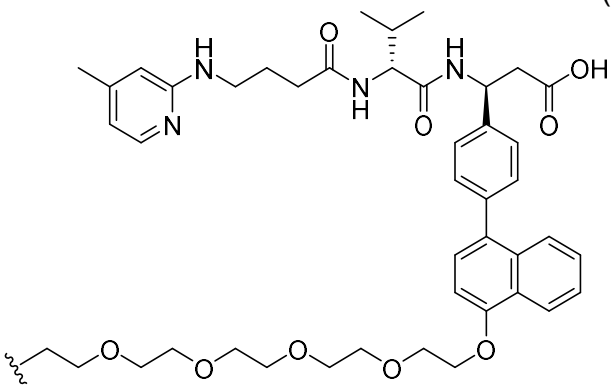
(Estructura 34);



(Estructura 35);



(Estructura 36); y



(Estructura 37),

o una sal farmacéuticamente aceptable de estas, donde ≋ indica el punto de conexión a una fracción que comprende una molécula de carga.

9. El ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde la molécula de carga es un ingrediente farmacéutico activo o un profármaco.

10. El ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la molécula de carga comprende una molécula pequeña, un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, una inmunoglobulina, un anticuerpo monoclonal, una etiqueta o marcador, un lípido, un ácido nucleico natural o modificado, un oligonucleótido de ácido nucleico natural o modificado, un polinucleótido de ácido nucleico natural o modificado, un péptido, un aptámero, un polímero, una poliamina, una proteína, una toxina, una vitamina, un

polietilenglicol, un hapteno, una digoxigenina, una biotina, un átomo radioactivo o molécula, o un fluoróforo.

11. El ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, donde la molécula de carga comprende un agente de ARNi.

12. El ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-11, que comprende además un conector de polietilenglicol que tiene 2-20 unidades de óxido de etileno.

13. Una estructura que comprende el ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, un grupo de enlace y un andamio, donde la estructura está unida a la molécula de carga.

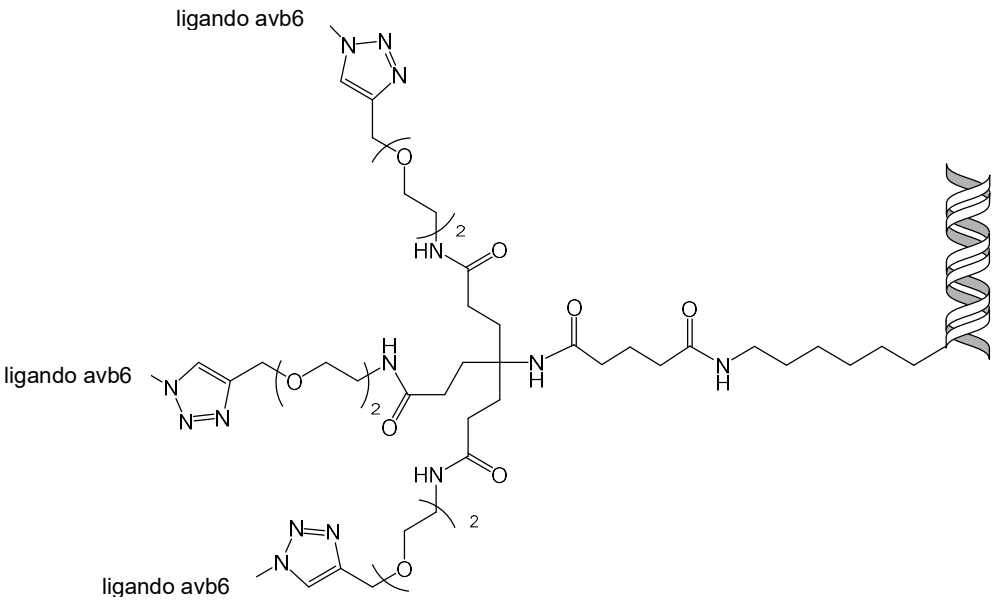
14. La estructura de la reivindicación 13, donde la estructura comprende el ligando de integrina αvβ6 en forma monodentada.

15. La estructura de la reivindicación 13, donde la estructura comprende el ligando de integrina αvβ6 en forma bidentada.

16. La estructura de la reivindicación 13, donde la estructura comprende el ligando de integrina αvβ6 en forma tridentada.

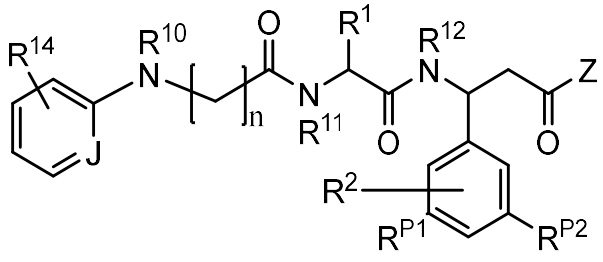
17. La estructura de la reivindicación 13, donde la estructura comprende el ligando de integrina αvβ6 en forma tetradentada.

18. La estructura de la reivindicación 13, donde el andamio tiene la siguiente fórmula:



(Estructura 300a), donde  representa un agente de ARNi, y “ligando avb6” representa la estructura de ligando respectiva y el agente de enlace.

19. Un precursor de ligando de integrina αvβ6 que comprende la estructura:

 (Fórmula Ib),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este,

donde,

n es un número entero de 0 a 7;

J es C-H o N;

Z es OR^{13}, $N(R^{13})_2$ o SR^{13};

R^1 es H, opcionalmente sustituido con C_1-C_6 alquilo, OH, COOH, $CON(R^5)_2$, OR^6, o R^1 comprende un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo, donde cada R^5 es independientemente H o C_1-C_6 alquilo, y R^6 es H o C_1-C_6 alquilo;

R^2, R^{P1} y R^{P2} son cada uno de manera independiente H, cicloalquileno sustituido opcionalmente, arileno sustituido opcionalmente, heterocicloalquileno sustituido opcionalmente o heteroarileno sustituido opcionalmente, o R2, RP1 y RP2 pueden comprender un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo;

R^{10} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

R^{11} es H o alquilo opcionalmente sustituido, o R^{11} y R^1 junto con los átomos a los que están unidos forman un heterociclo opcionalmente sustituido;

R^{12} es H o alquilo opcionalmente sustituido;

cada R^{13} es independientemente H, alquilo opcionalmente sustituido, o R^{13} comprende un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo;

R^{14} es alquilo opcionalmente sustituido; y

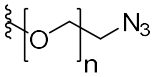
donde al menos uno de R^1, R^2, R^{13}, R^{P1} y R^{P2} comprende un grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo.

20. El precursor del ligando de integrina αvβ6 de la reivindicación 19, donde el grupo de enlace es un conector de PEG.

21. El precursor del ligando de integrina αvβ6 de la reivindicación 19, donde el enlace de PEG comprende 2-20 unidades de PEG.

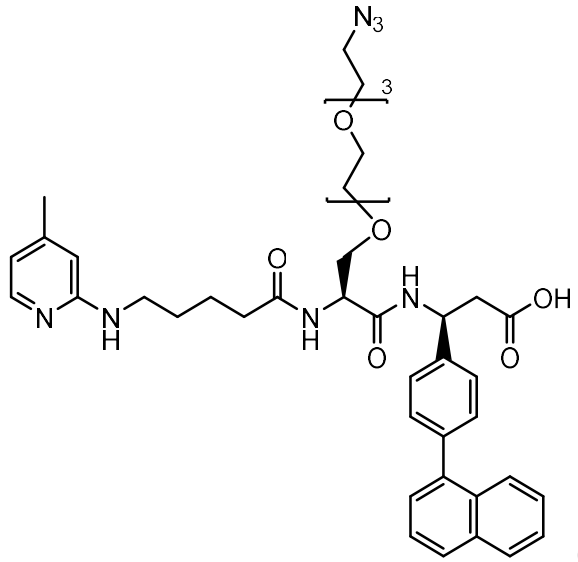
22. El precursor del ligando de integrina αvβ6 de la reivindicación 19, donde el grupo reactivo es una azida.

23. El precursor del ligando de integrina αvβ6 de la reivindicación 19, donde el grupo de enlace conjugado con un grupo reactivo tiene la siguiente estructura:

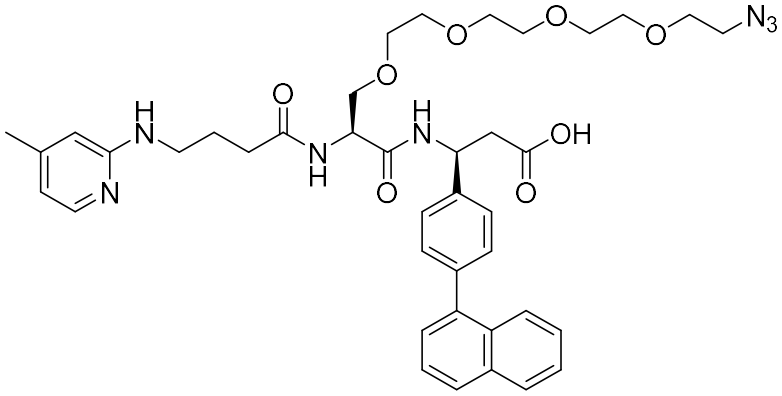


donde n es un número entero de 2 a 20 y ≀ indica el punto de conexión de la estructura de la Fórmula Ib.

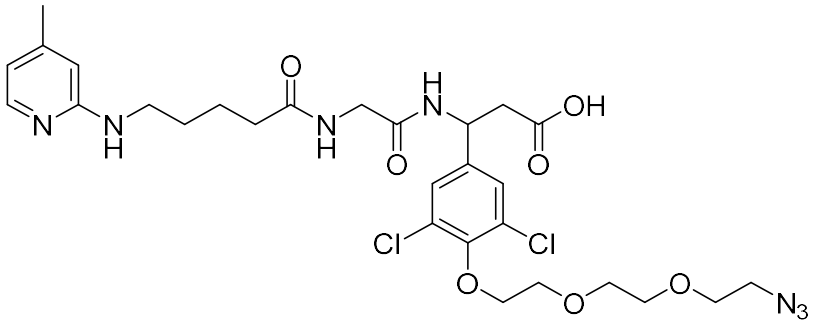
24. Un precursor de ligando de integrina αvβ6 se selecciona del grupo que consiste en:



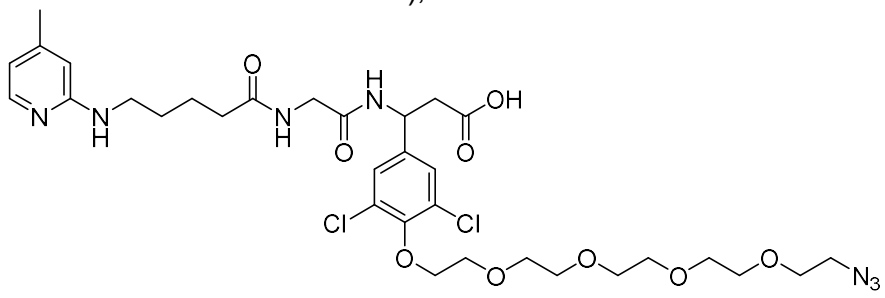
(Estructura 1b),



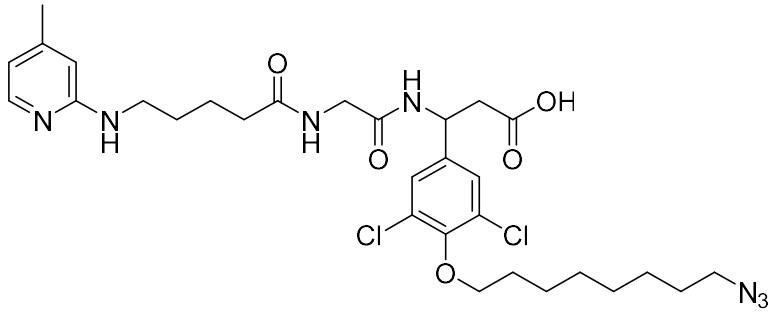
(Estructura 2b),



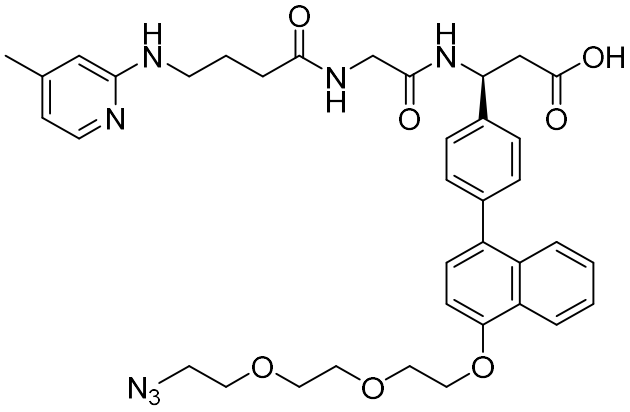
(Estructura 5b),



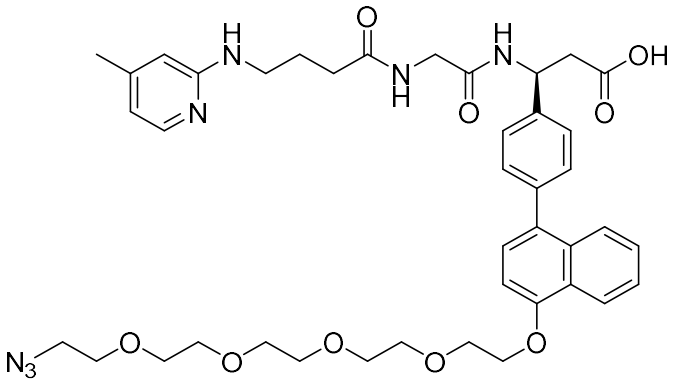
(Estructura 5.1b),



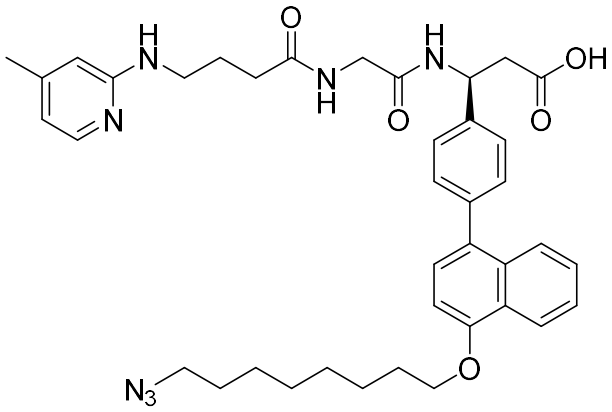
(Estructura 5.2b),



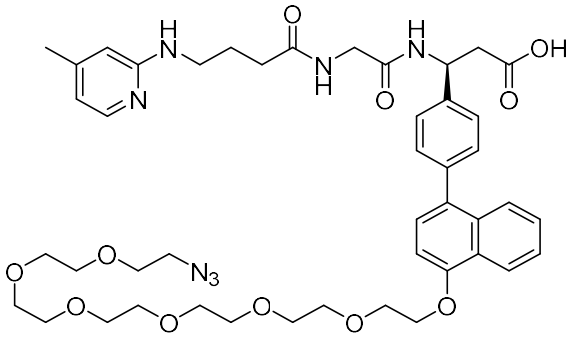
(Estructura 6b),



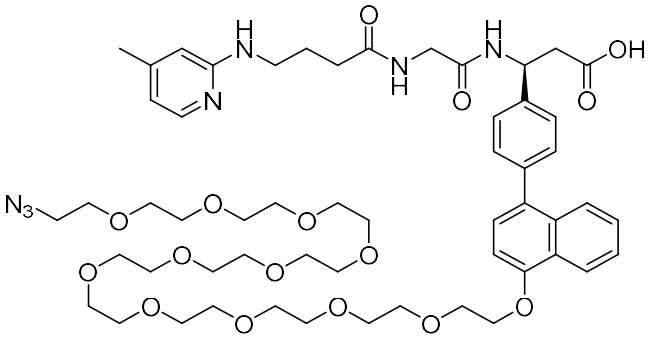
(Estructura 6.1b),



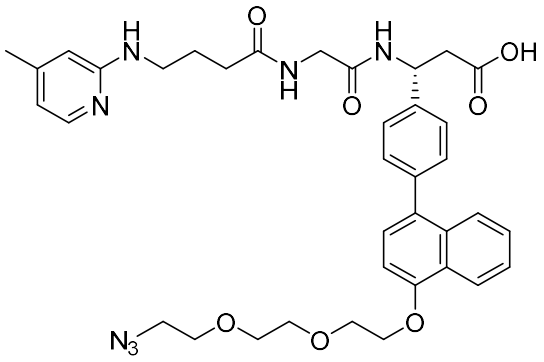
(Estructura 6.2b),



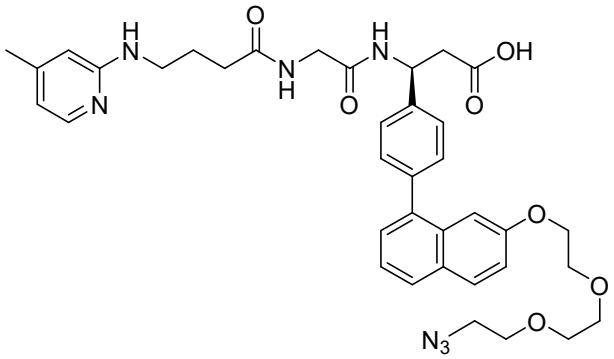
(Estructura 6.3b),



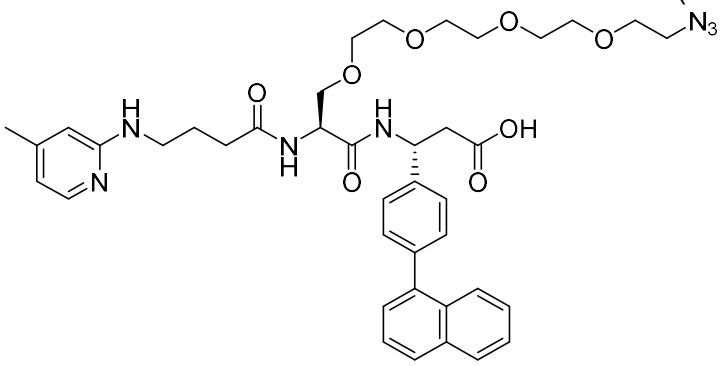
(Estructura 6.4b),



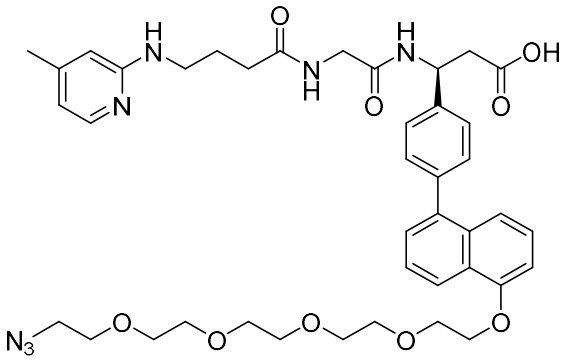
(Estructura 7b),



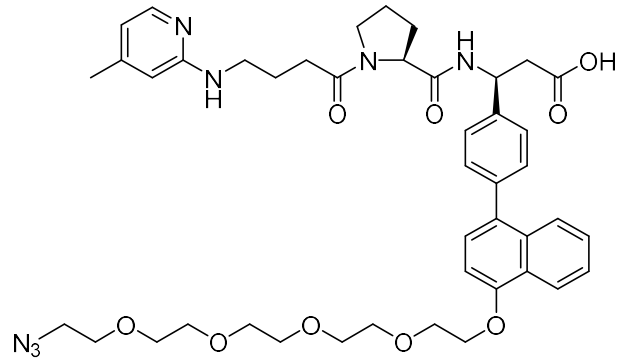
(Estructura 8b),



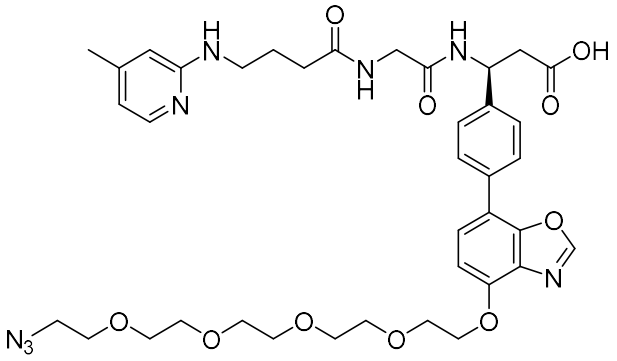
(Estructura 9b),



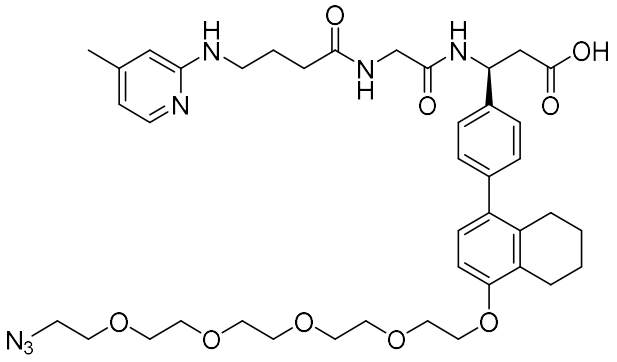
(Estructura 10b),



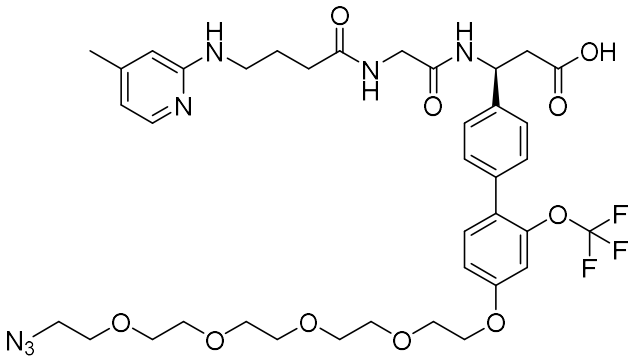
(Estructura 11b),



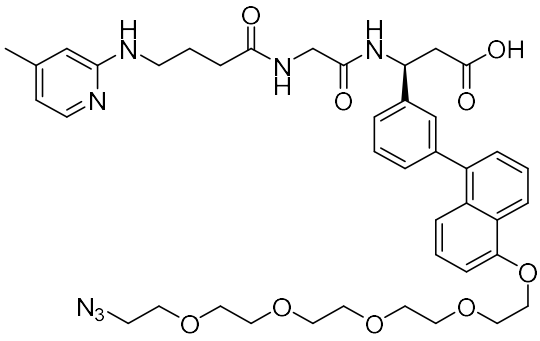
(Estructura 12b),



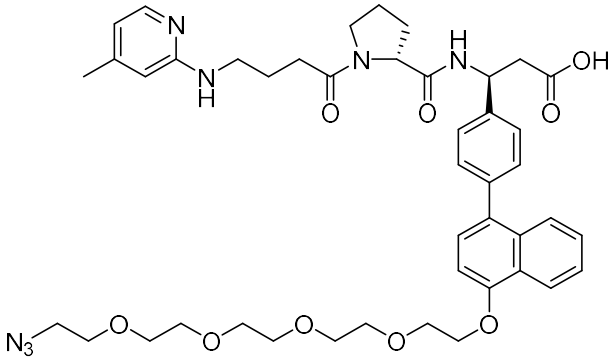
(Estructura 13b),



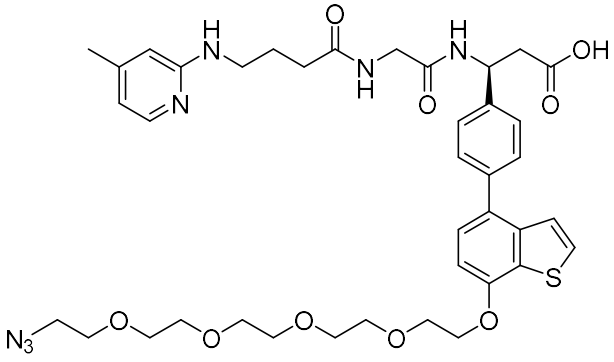
(Estructura 14b),



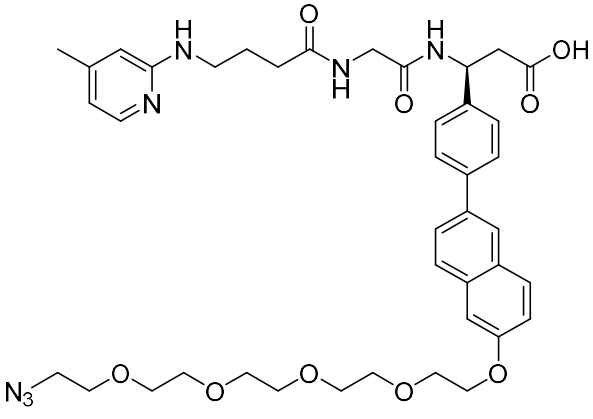
(Estructura 15b),



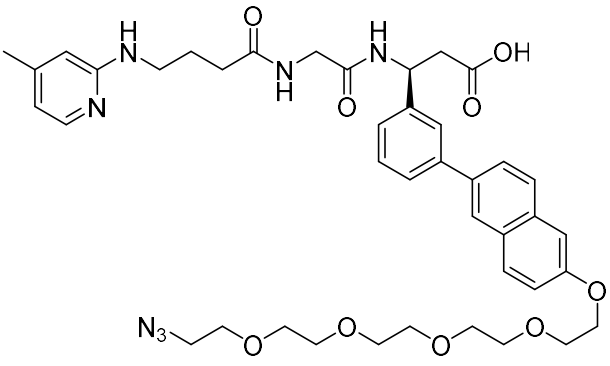
(Estructura 16b),



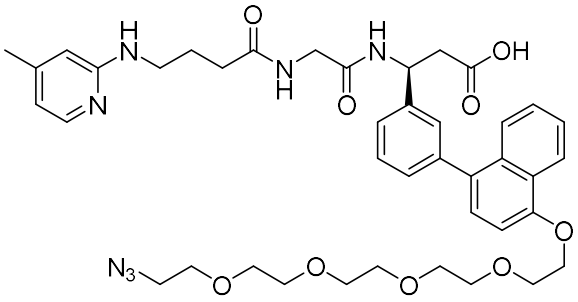
(Estructura 17b),



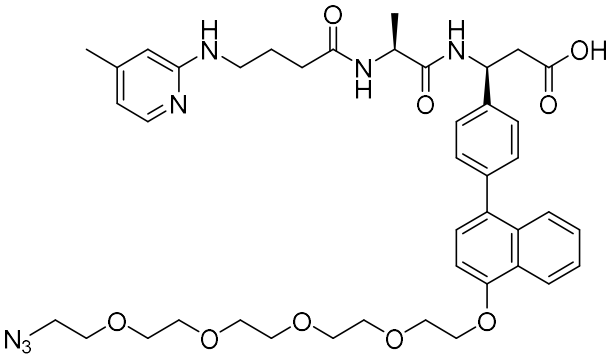
(Estructura 18b),



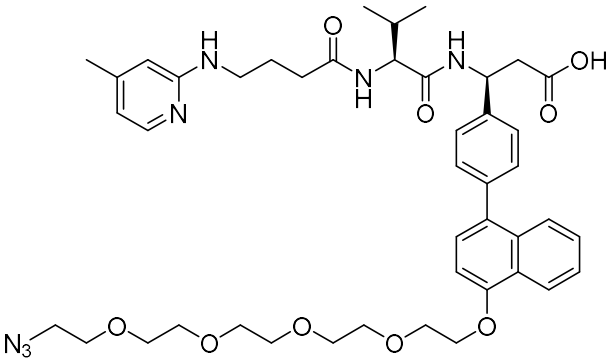
(Estructura 19b),



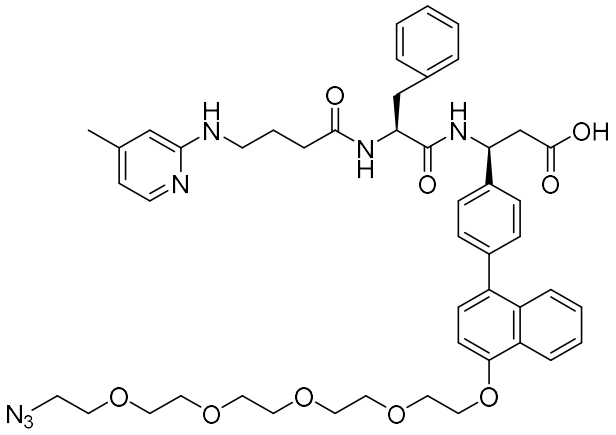
(Estructura 20b),



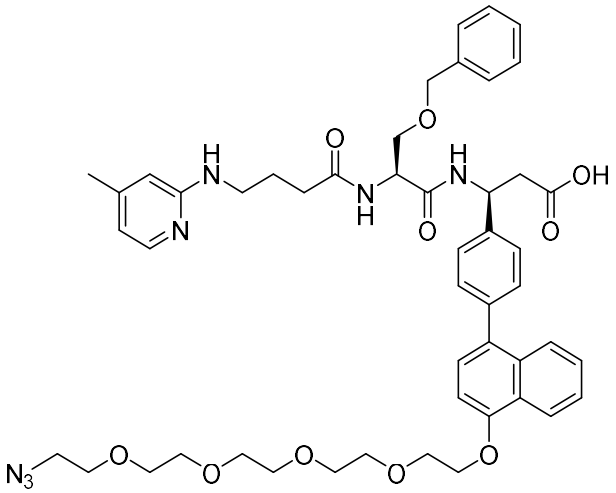
(Estructura 22b),



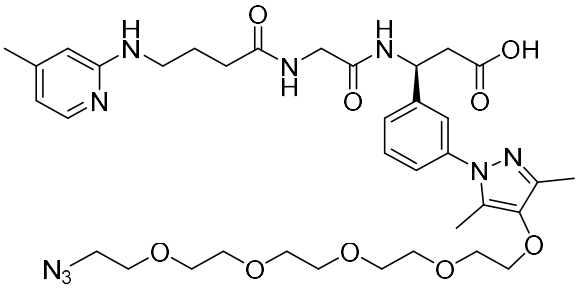
(Estructura 23b),



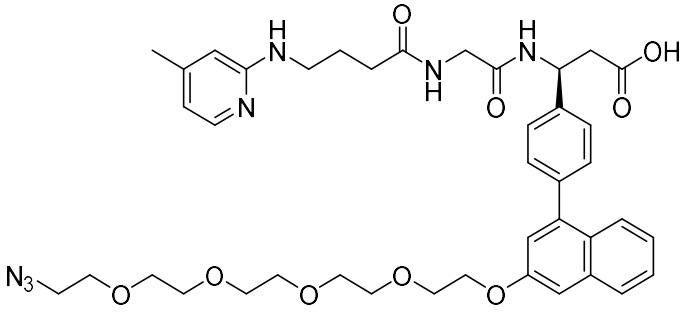
(Estructura 24b),



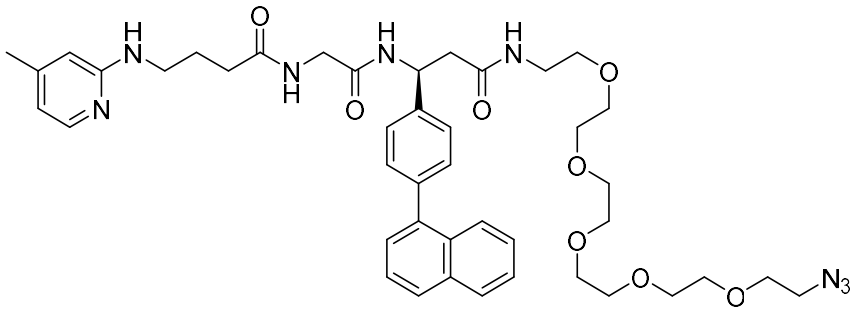
(Estructura 25b),



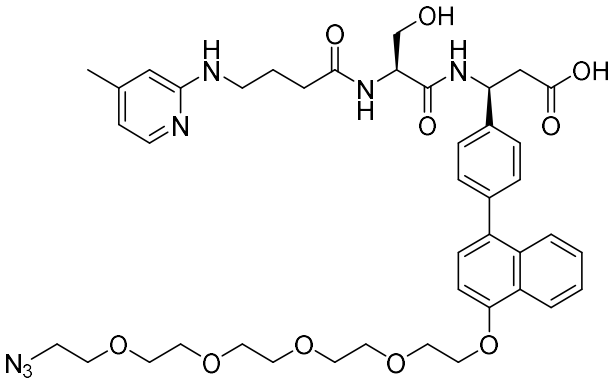
(Estructura 27b),



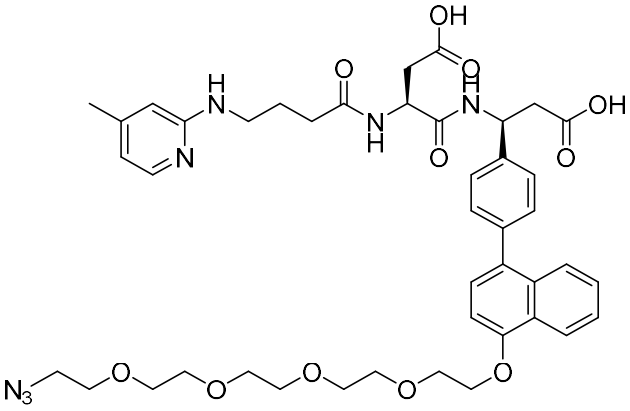
(Estructura 29b),



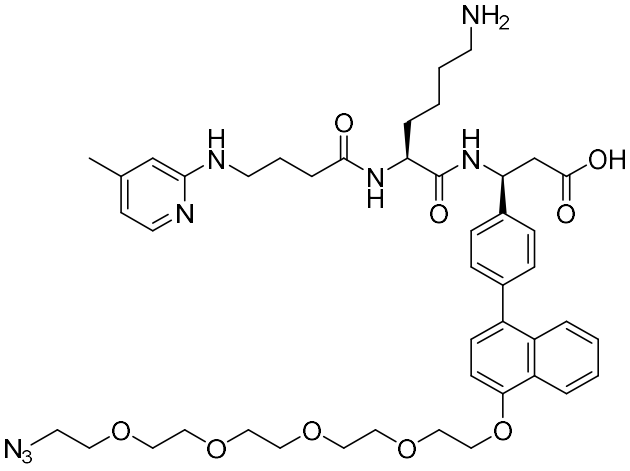
(Estructura 30b),



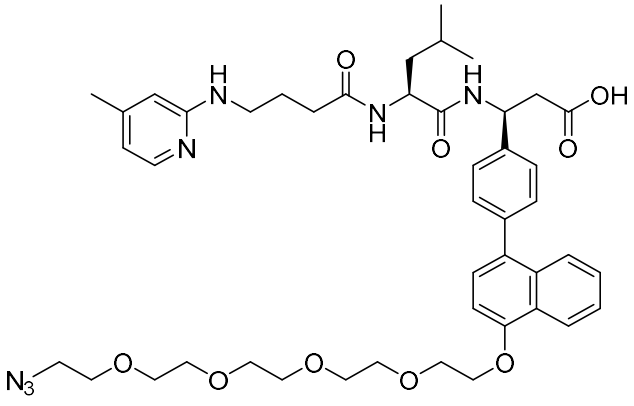
(Estructura 31b),



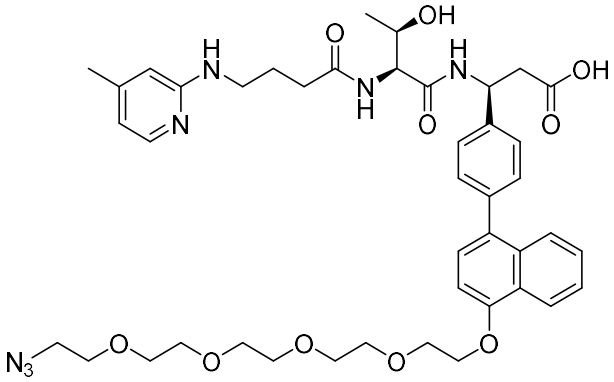
(Estructura 32b),



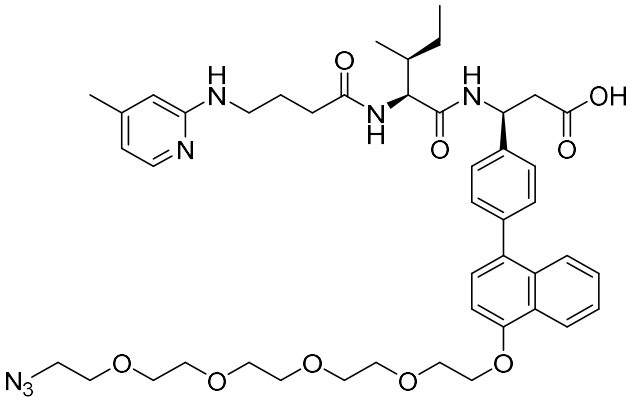
(Estructura 33b),



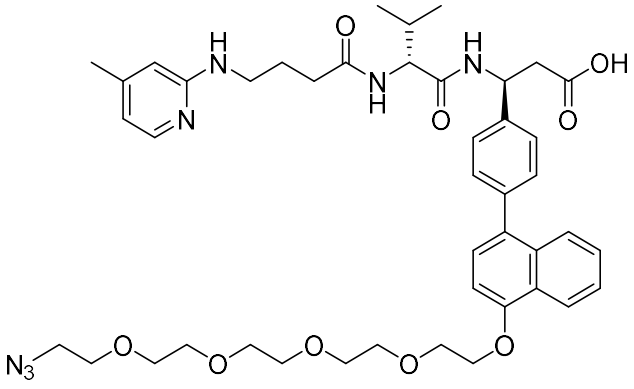
(Estructura 34b),



(Estructura 35b),



(Estructura 36b) y



(Estructura 37b),

o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

25. Una composición que comprende el ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-12 o la estructura de cualquiera de las reivindicaciones 13-18, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

26. La composición de la reivindicación 25, donde el ligando de integrina αvβ6 se conjuga con un compuesto basado en oligonucleótidos que es capaz de inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial.

27. La composición de la reivindicación 25, donde el ligando de integrina αvβ6 se conjuga con un agente de ARNi que es capaz de inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial.

28. La composición de la reivindicación 25, donde el ligando de integrina αvβ6 se conjuga con un agente de ARNi que es capaz de inhibir la expresión de un gen diana en una célula epitelial bronquiolar.

29. Un método para administrar una o más moléculas de carga a una célula, que comprende administrar a la célula un ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-12 o la estructura de cualquiera de las reivindicaciones 13-18.

30. Un método para administrar una o más moléculas de carga a una célula o un tejido de un sujeto *in vivo*, que comprende administrar a la célula un ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-12, la estructura de cualquiera de las reivindicaciones 13-18 o una composición de cualquiera de las reivindicaciones 19-22.

31. El método de la reivindicación 29 o 30, donde la célula se selecciona del grupo que consiste en: células epiteliales alveolares tipo I y II, células caliciformes, células epiteliales secretoras, células epiteliales ciliadas, células epiteliales corneales y conjuntivales, células epiteliales dérmicas, colangiocitos, enterocitos, células epiteliales ductales, células epiteliales glandulares y tumores epiteliales (carcinomas).

32. El método de la reivindicación 29 o 30, donde una o más moléculas de carga comprenden un compuesto basado en oligonucleótidos.

33. El método de la reivindicación 32, donde el compuesto basado en oligonucleótidos es un agente de ARNi.

34. Un método para inhibir la expresión de un gen diana en una célula *in vivo*, que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de una composición que incluye un compuesto basado en oligonucleótidos conjugado con un ligando de integrina αvβ6 de cualquiera de las reivindicaciones 1-12.

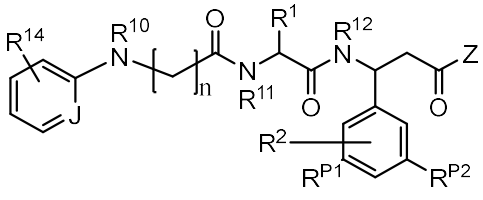
35. El método de la reivindicación 34, donde la célula se selecciona del grupo que consiste en: células epiteliales alveolares tipo I y II, células caliciformes, células epiteliales secretoras, células epiteliales ciliadas, células epiteliales corneales y conjuntivales, células epiteliales dérmicas, colangiocitos, enterocitos, células epiteliales ductales, células epiteliales glandulares y tumores epiteliales (carcinomas).

36. El método de la reivindicación 34 o 35, donde el compuesto basado en oligonucleótidos es un agente de ARNi.

LIGANDOS DE INTEGRINA Y USOS DE ESTOS

RESUMEN

Se describen ligandos sintéticos de integrina αvβ6 de Fórmula I que tienen estabilidad en suero y afinidad por la integrina αvβ6, que es un receptor expresado en una variedad de tipos de células. Los ligandos descritos son útiles para administrar moléculas de carga, tales como agentes de ARNi u otros compuestos basados en oligonucleótidos, a las células que expresan la integrina αvβ6 y, facilitando así la absorción de las moléculas de carga en estas células. También se describen composiciones que incluyen ligandos de integrina αvβ6 y métodos de uso.



(Fórmula I)