

PROCESO PARA PREPARAR UN RESTO ENLAZADOR DE CONJUGADOS

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a procesos para preparar enlazadores que son útiles en la conjugación de moléculas terapéuticas (por ejemplo, agentes citotóxicos) con restos de direccionamiento (por ejemplo, proteínas, péptidos, anticuerpos, nanopartículas, ácidos nucleicos).

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

El cáncer es un grupo de enfermedades caracterizado por un control aberrante del crecimiento celular. Se estima que la incidencia anual del cáncer supera los 1,6 millones solo en los Estados Unidos. Si bien la cirugía, la radiación, la quimioterapia y las hormonas se usan para tratar el cáncer, sigue siendo la segunda causa principal de muerte en los EE. UU. y se necesitan estrategias de tratamiento adicionales. Los conjugados de fármacos han surgido como un enfoque viable y continuamente explorado para atacar los tumores malignos.

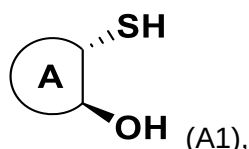
A pesar de los avances en la selectividad de los fármacos quimioterapéuticos durante las últimas décadas, los fármacos quimioterapéuticos citotóxicos tradicionales a menudo carecen de suficiente especificidad y efectos dirigidos, lo que provoca lesiones en las células normales no cancerosas que pueden provocar reacciones adversas graves. Se han desarrollado conjugados de fármacos, compuestos por un fármaco (por ejemplo, un agente citotóxico) unido a un resto de direccionamiento (por ejemplo, un péptido, una proteína o un anticuerpo) para su uso en la terapia dirigida a tumores. Los conjugados de fármacos pueden proporcionar la administración preferencial del fármaco al tejido enfermo, reduciendo los efectos secundarios no deseados, como el daño al tejido no canceroso. Véase, por ejemplo, Vrettos, V., "On the design principles of peptide—drug conjugates for targeted drug delivery to the malignant tumor site", Beilstein J. Org. Chem. 2018, 14:930-954.

El desarrollo de enlazadores, grupos que unen el fármaco al resto de direccionamiento, ha surgido como un aspecto importante en el diseño de nuevos conjugados de fármacos. Los enlazadores son deseablemente lo suficientemente estables in vivo para permitir la administración del fármaco a la célula enferma diana. Además, el enlazador no debe perturbar la afinidad de unión del resto de direccionamiento a su diana. Por último, tras la localización del fármaco en la diana, el enlazador debe ser capaz de liberar el fármaco para que el fármaco liberado pueda unirse a su diana. Véase Lu, J., "Linkers Having a Crucial Role in Antibody-

Drug Conjugates,” Int. J. Mol. Sci. 2016, 17, 1-22; y Corso A.D., “Innovative Linker Strategies for Tumor-Targeted Drug Conjugates,” Chem. Eur. J. 2019, 25(65):14740-14757. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar nuevos enlazadores y procesos para fabricarlos.

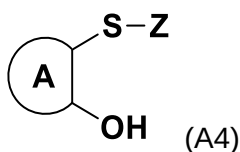
5 COMPENDIO

En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A1)

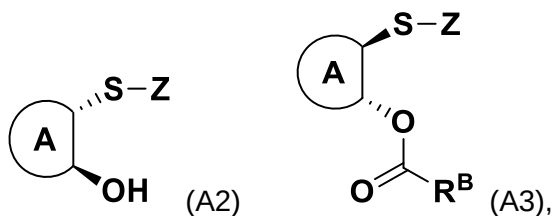


- 10 o una sal de este, en donde el anillo A es cicloalquilo C₅₋₇ o heterocicloalquilo de 5-7 miembros, que comprende:

a) tratar un compuesto de Fórmula (A4)



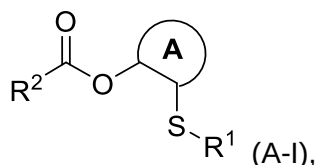
- 15 o una sal de este, en donde Z es un grupo protector, con Ak1, en donde Ak1 es un reactivo acilante, en presencia de una enzima para proporcionar una mezcla de un compuesto de Fórmula (A2) y un compuesto de Fórmula (A3);



o sales de estos; en donde R^B es alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido con COOH; y

- 20 b) desproteger el compuesto de Fórmula (A2), o una sal de este, para proporcionar un compuesto de Fórmula (A1), o una sal de este.

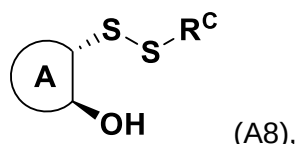
También se proporciona en la presente descripción un procedimiento para preparar un compuesto de Fórmula (A-I):



o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde
 el anillo A es cicloalquilo C₅₋₇ o heterocicloalquilo de 5-7 miembros;
 R¹ es un resto de direccionamiento; y
 R² es un resto terapéutico;

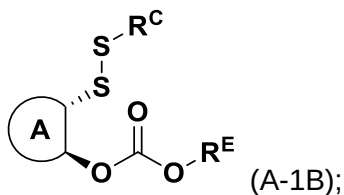
5 que comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A1), o una sal de este, preparado por el proceso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-48, con R^C-S-S-R^C para proporcionar un compuesto de Fórmula (A8)



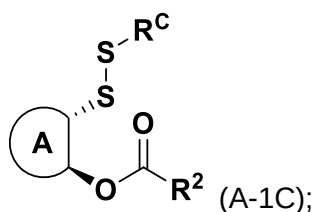
10 o una sal de este, en donde R^C es arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C₆₋₁₀ y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C₁₋₄, halo, CN, NO₂, OH y OCH₃;

15 b) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A8), o una sal de este, con R^EOC(O)OR^E, en donde R^E es arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C₆₋₁₀ y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos
 20 con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C₁₋₄, halo, CN, NO₂, OH y OCH₃; para proporcionar un compuesto de Fórmula (A-1B)



o una sal de este;

c) hacer reaccionar el compuesto de fórmula (A-1B) o una sal de este, con R²H
 25 para proporcionar un compuesto de Fórmula (A-1C)



o una sal de este; y

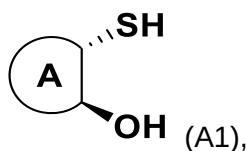
hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A-1C), o una sal de este, con R^1H para proporcionar un compuesto de Fórmula (A-I).

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Preparación de compuestos de Fórmula (A1)

En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A1)



10

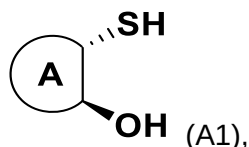
o una sal de este, en donde el anillo A es cicloalquilo C_{5-7} o heterocicloalquilo de 5-7 miembros, que es útil para preparar conjugados de agentes terapéuticos tales como, por ejemplo, agentes citotóxicos.

Los procesos para preparar compuestos de Fórmula (A1) se describen en la publicación de patente de EE. UU. n.º US 2019/209580, la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/925,094 (publicación de EE. UU. n.º 2021/0009719) y la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/924,445 (publicación de EE. UU. n.º 2021/0009536). La presente descripción proporciona ventajas sobre los procesos previamente descritos para preparar compuestos de Fórmula (A1), ofreciendo mejores rendimientos, escalabilidad y requiriendo procedimientos menos intensivos para la purificación. En particular, la presente descripción proporciona la resolución catalizada por enzimas de los enantiómeros de los compuestos de Fórmula (A1). La descripción proporciona además la síntesis enantioselectiva de compuestos de Fórmula (A4), que son precursores de los compuestos de Fórmula (A1). En cambio, los procesos descritos anteriormente se basaban en la separación de enantiómeros mediante HPLC o con cromatografía quiral, que es más difícil de realizar a gran escala y más costosa que los procesos proporcionados en la presente descripción.

25

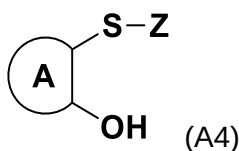
En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de

Fórmula (A1)

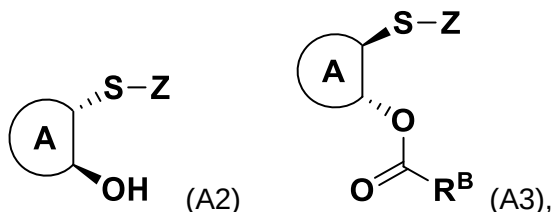


o una sal de este, en donde el anillo A es cicloalquilo C₅₋₇ o heterocicloalquilo de 5-7 miembros, que comprende:

- 5 a) tratar un compuesto de Fórmula (A4)



o una sal de este, en donde Z es un grupo protector, con Ak1, en donde Ak1 es un reactivo acilante, en presencia de una enzima para proporcionar una mezcla de un compuesto de Fórmula (A2) y un compuesto de Fórmula (A3);



10

o sales de estos; en donde R^B es alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido con COOH; y

- b) desproteger el compuesto de Fórmula (A2), o una sal de este, para proporcionar un compuesto de Fórmula (A1), o una sal de este.

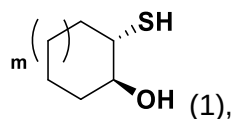
15 En algunas modalidades, el Anillo A es cicloalquilo C₅₋₇. En algunas modalidades, el Anillo A es ciclopentilo. En algunas modalidades, el Anillo A es ciclohexilo. En algunas modalidades, el Anillo A es cicloheptilo.

En algunas modalidades, el Anillo A es cicloalquilo C₅₋₇. En algunas modalidades, el Anillo A es ciclopentilo. En algunas modalidades, el Anillo A es ciclohexilo. En algunas modalidades, el Anillo A es cicloheptilo.

20 En algunas modalidades, el Anillo A es heterocicloalquilo de 5-7 miembros. En algunas modalidades, el Anillo A es heterocicloalquilo de 5 miembros. En algunas modalidades, el Anillo A es heterocicloalquilo de 6 miembros. En algunas modalidades, el Anillo A es heterocicloalquilo de 7 miembros. En algunas modalidades, el Anillo A es tetrahydrofurano. En algunas modalidades, el Anillo A es tetrahydropirano.

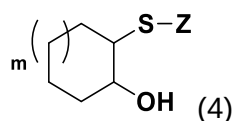
25 También se proporciona en la presente descripción un procedimiento para preparar un

compuesto de Fórmula (1)



o una sal de este, en donde m es 0, 1 o 2, que comprende:

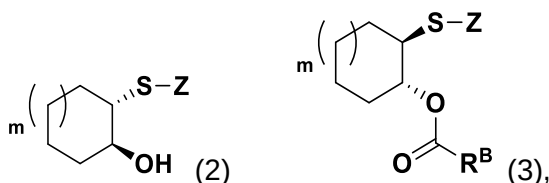
a) tratar un compuesto de Fórmula (4)



5

o una sal de este, en donde Z es un grupo protector,

con Ak1, en donde Ak1 es un reactivo acilante, en presencia de una enzima para proporcionar una mezcla de un compuesto de Fórmula (2) y un compuesto de Fórmula (3);



10 o sales de estos; en donde R^B es alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido con COOH; y

b) desproteger el compuesto de Fórmula (2), o una sal de este, para proporcionar un compuesto de Fórmula (1), o una sal de este.

En algunas modalidades, m es 0. En algunas modalidades, m es 1. En algunas modalidades, m es 2.

15 En algunas modalidades, Z es -CH₂R^A, en donde R^A es arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C₆₋₁₀ y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de

20 alquilo C₁₋₄, halo, CN, NO₂, OH y OCH₃.

En algunas modalidades, R^A es arilo C₆₋₁₀. En algunas modalidades, R^A es fenilo.

En algunas modalidades, Ak1 es anhídrido glutárico, anhídrido succínico o acetato de isopropenilo. En algunas modalidades, Ak1 es anhídrido glutárico. En algunas modalidades, Ak1 es anhídrido succínico. En algunas modalidades, Ak1 es acetato de isopropenilo.

25 En algunas modalidades, R^B es CH₃, CH₂CH₂COOH o CH₂CH₂CH₂COOH. En algunas modalidades, R^B es CH₃. En algunas modalidades, R^B es CH₂CH₂COOH. En algunas modalidades, R^B es CH₂CH₂CH₂COOH.

Como se usa en este documento, el término "enzima" se refiere a una proteína que cataliza reacciones químicas. En algunas modalidades, la enzima puede catalizar reacciones de esterificación (por ejemplo, la formación de un éster a partir de un alcohol). En algunas modalidades, la enzima puede catalizar reacciones de esterificación de manera enantioselectiva (por ejemplo, favoreciendo la formación de un enantiómero sobre el enantiómero opuesto). En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa.

Como se usa en el presente documento, el término "enzima lipasa" se refiere a una enzima que en condiciones naturales (por ejemplo, en medios acuosos) cataliza la hidrólisis de lípidos. En medios no acuosos (por ejemplo, disolventes orgánicos), ciertas enzimas lipasas pueden catalizar reacciones de esterificación (por ejemplo, la conversión de alcoholes en ésteres). Las enzimas lipasa que son capaces de catalizar reacciones de esterificación en disolventes orgánicos de forma enantioselectiva (por ejemplo, favoreciendo la formación de un enantiómero frente al enantiómero opuesto) son conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Kumar et al., "Lipase catalysis in organic solvents: advantages and applications," Biol. Proced. Online 2016; 18:2; Ducret, A., "Lipase-catalyzed enantioselective esterification of ibuprofen in organic solvents under controlled water activity," Enzyme and Microbial Technology 1998, 22(4):212-216.

En algunas modalidades, la enzima se inmoviliza sobre un soporte sólido (es decir, se une a un sólido que es insoluble en el medio de reacción). La enzima puede unirse al soporte sólido mediante, por ejemplo, unión covalente a grupos funcionales en el soporte sólido, adsorción en el soporte sólido y atrapamiento o encapsulación en el soporte sólido. La inmovilización en un sustrato sólido puede aumentar la estabilidad de la enzima y facilitar la recuperación de productos y el reciclaje de enzimas. En algunas modalidades, el soporte sólido es sílice o un óxido inorgánico. En algunas modalidades, el soporte sólido es un carbón activado o un carbón vegetal modificado o sin modificar. En algunas modalidades, el soporte sólido es un polímero sintético (por ejemplo, película de polipropileno activado con plasma amino y carboxilo; y copolímeros de metacrilato). En algunas modalidades, el soporte sólido es Immobead. En algunas modalidades, el soporte sólido es una resina de intercambio iónico (por ejemplo, Amberlite y Sepabeads). En algunas modalidades, el soporte sólido es gel de sílice. En algunas modalidades, el soporte sólido es poliestireno. En algunas modalidades, el soporte sólido son nanocristales de celulosa. En algunas modalidades, el soporte sólido es quitosano. En algunas modalidades, el soporte sólido es una perla acrílica. Las técnicas de inmovilización de enzimas son bien conocidas en la técnica. Consulte Zdarta, J., "A General

Overview of Support Materials for Enzyme Immobilization: Characteristics, Properties, Practical Utility,” Catalysts 2018, 8, 92, 1-27; y Miletic, N., “Immobilization of *Candida antarctica* lipase B on polystyrene nanoparticles,” Macromolecular Rapid Communications, 2010, 31(1):71-74.

En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de una fuente bacteriana o fúngica. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de una fuente fúngica. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de una fuente bacteriana. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de *Candida antarctica*, *Rhizomucor miehei*, *Thermomyces lanuginosa*, *Candida rugosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizopus oryzae*, *Mucor javanicus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus niveus*, *Alcaligenes* sp., Resinase HT, Lipex 100L, Stickaway de Novozymes, *Candida cylindracea* sp., o *Bacillus subtilis*. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de *Candida antarctica*. En algunas modalidades, la enzima es lipasa B de *Candida antarctica*. Las enzimas pueden obtenerse de Novozymes, Genencor, Sigma-Aldrich, c-Lecta, Aum Enzymes e inmovilizarse en un sustrato sólido como, por ejemplo, Immobead COV-1.

En algunas modalidades, la enzima se selecciona de una de las siguientes:

lipasa A de *Candida antarctica* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa B de *Candida antarctica* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa B genérica de *Candida antarctica* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Rhizomucor miehei* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Thermomyces lanuginosa* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Candida rugosa* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Pseudomonas cepacia* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Pseudomonas fluorescens* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Rhizopus oryzae* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Mucor javanicus* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Aspergillus niger* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Rhizopus niveus* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Alcaligenes* sp. unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa Resinase HT unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa Lipex 100L unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Fusarium solani* pisi, Novozyme 51032 unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Candida cylindracea* sp. unida covalentemente a perlas acrílicas secas; y
lipasa de *Bacillus subtilis* unida covalentemente a perlas acrílicas secas.

En algunas modalidades, la enzima se selecciona de una de las siguientes:

- 5 Producto n.º IMMCALA-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMCALB-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMCALBY-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMRML-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMTLL-T2-150 de ChiralVision;
- 10 Producto n.º IMMCRL-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMABC-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMAPF-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMARO-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMAMJ-T2-150 de ChiralVision;
- 15 Producto n.º IMMANA-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMRNA-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMASMQ-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMRES-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMLIPX-T2-150 de ChiralVision;
- 20 Producto n.º IMML51-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMCCMO-T2-150 de ChiralVision;
- Producto n.º IMMAULI-T2-150 de ChiralVision; y
- Producto n.º CaLB-ADS4 de ChiralVision,

- 25 En algunas modalidades, la enzima es el Producto n.º IMMCALB-T2-150 de ChiralVision. En algunas modalidades, la enzima es el Producto n.º CaLB-ADS4 de ChiralVision.

- 30 El tratamiento de un compuesto de Fórmula (A4) con Ak1 se puede realizar a una temperatura entre aproximadamente 15 °C y aproximadamente 20 °C. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (A4) con Ak1 se realiza a temperatura ambiente.

El tratamiento de un compuesto de Fórmula (A4) con Ak1 se puede realizar durante un período de aproximadamente 6 h a aproximadamente 24 h. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (A4) con Ak1 se realiza durante un período de

aproximadamente 16 h.

El tratamiento de un compuesto de Fórmula (A4) con Ak1 se puede realizar en presencia de S1, en donde S1 es un disolvente. En algunas modalidades, S1 es un disolvente de éter. En algunas modalidades, S1 es metil terc-butil éter. En algunas modalidades, S1 es 2-metiltetrahidrofurano.

El proceso puede comprender además la etapa de separar el compuesto de Fórmula (A2) del compuesto de Fórmula (A3). En algunas modalidades, la separación comprende tratar la mezcla con una base acuosa y separar la capa acuosa de la mezcla. En algunas modalidades, la base acuosa es carbonato de sodio acuoso.

En algunas modalidades, Z es $-\text{CH}_2\text{R}^A$, y la desprotección comprende reducir el compuesto de Fórmula (A2) con RA1, en donde RA1 es un agente reductor. En algunas modalidades, R^A es fenilo.

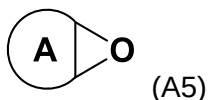
En algunas modalidades, RA1 es litio metálico, sodio metálico o calcio metálico. En algunas modalidades, RA1 es litio metálico.

La reducción se puede llevar a cabo en presencia de S2, en donde S2 es un disolvente. En algunas modalidades, S2 es un disolvente de éter. En algunas modalidades, S2 es 2-metiltetrahidrofurano.

En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A1) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 75 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A1) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 90 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A1) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 95 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A1) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 99 %.

En algunas modalidades, el Compuesto 1 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 75 %. En algunas modalidades, el Compuesto 1 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 90 %. En algunas modalidades, el Compuesto 1 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 95 %. En algunas modalidades, el Compuesto 1 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 99 %.

El compuesto de Fórmula (A4) se puede preparar mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A5)



o una sal de este, con $\text{R}^A\text{CH}_2\text{SH}$ (Fórmula (6)), o una sal de este, para proporcionar el compuesto de Fórmula (A4) o una sal de este, en donde R^A es como se define en la presente

descripción.

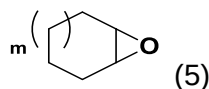
En algunas modalidades, la reacción del compuesto de Fórmula (A5) o una sal de este con $R^A\text{CH}_2\text{SH}$ (Fórmula (6)) o una sal de este se realiza en presencia de M1, en donde M1 es un catalizador metálico. En algunas modalidades, M1 es una sal de zinc. En algunas modalidades, M1 es (D)-tartrato de zinc.

La reacción del compuesto de Fórmula (A5) o una sal de este con $R^A\text{CH}_2\text{SH}$ (Fórmula (6)) se puede realizar en presencia de B1, en donde B1 es una base. En algunas modalidades, B1 es una base de alcóxido. En algunas modalidades, B1 es etóxido de sodio.

La reacción del compuesto de Fórmula (A5) con un compuesto de Fórmula (A6) se puede realizar en presencia de S3, en donde S3 es un disolvente. En algunas modalidades, S3 es un disolvente halogenado o un disolvente de éter. En algunas modalidades, S3 es diclorometano. En algunas modalidades, S3 es 2-metiltetrahidrofurano.

En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 25 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 50 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 70 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 80 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 90 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 95 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 99 %.

El compuesto de Fórmula (4) se puede preparar mediante un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (5)



o una sal de este, con $R^A\text{CH}_2\text{SH}$ (Fórmula (6)), o una sal de este, para proporcionar el compuesto de Fórmula (4) o una sal de este, en donde m y R^A son como se define en la presente descripción.

En algunas modalidades, m es 0. En algunas modalidades, m es 1. En algunas modalidades, m es 2.

En algunas modalidades, la reacción del compuesto de Fórmula (5) o una sal de este con $R^A\text{CH}_2\text{SH}$ (Fórmula (6)) o una sal de este se realiza en presencia de M1, en donde M1 es

un catalizador metálico. En algunas modalidades, M1 es una sal de zinc. En algunas modalidades, M1 es (D)-tartrato de zinc.

La reacción del compuesto de Fórmula (5) o una sal de este con $R^A\text{CH}_2\text{SH}$ (Fórmula (6)) se puede realizar en presencia de B1, en donde B1 es una base. En algunas modalidades,

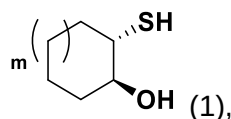
5 B1 es una base de alcóxido. En algunas modalidades, B1 es etóxido de sodio.

La reacción del compuesto de Fórmula (5) con un compuesto de Fórmula (6) se puede realizar en presencia de S3, en donde S3 es un disolvente. En algunas modalidades, S3 es un disolvente halogenado o un disolvente de éter. En algunas modalidades, S3 es diclorometano. En algunas modalidades, S3 es 2-metiltetrahidrofurano.

10 En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 25 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 50 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 70 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 80 %. En algunas
15 modalidades, el compuesto de Fórmula (4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 90 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 95 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (4) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 99 %.

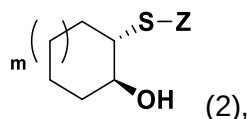
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A1) es un compuesto de Fórmula

20 (1)



o una sal de este, en donde m es 0, 1 o 2.

En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A2) es un compuesto de Fórmula (2)

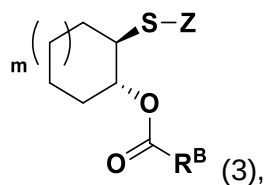


25

o una sal de este, en donde m es 0, 1 o 2.

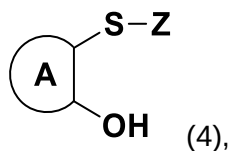
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A3) es un compuesto de Fórmula (3)

13



o una sal de este, en donde m es 0, 1 o 2.

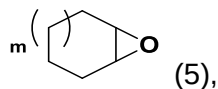
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A4) es un compuesto de Fórmula (4)



5

o una sal de este, en donde m es 0, 1 o 2.

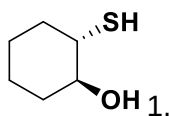
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A5) es un compuesto de Fórmula (5)



10 o una sal de este, en donde m es 0, 1 o 2.

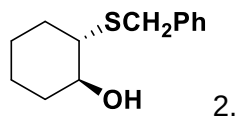
En algunas modalidades, m es 0. En algunas modalidades, m es 1. En algunas modalidades, m es 2.

En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (1) es el Compuesto 1:

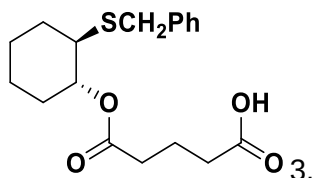


15

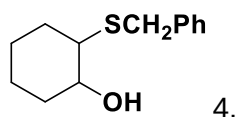
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (2) es el Compuesto 2:



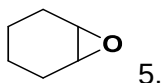
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (3) es el Compuesto 3:



En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (4) es el Compuesto 4:

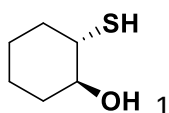


En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (5) es el Compuesto 5:



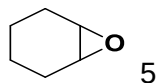
En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (6) es bencil mercaptano.

- 5 También se proporciona en la presente descripción un proceso para preparar el Compuesto 1 que tiene la fórmula:



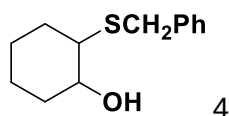
o una sal de este, que comprende:

- a) hacer reaccionar el Compuesto 5 que tiene la fórmula:



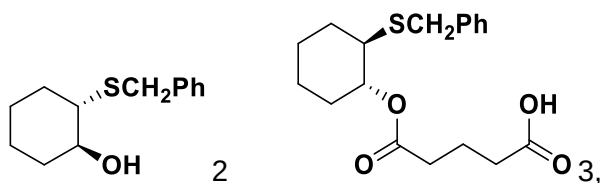
10

o una sal de este, con bencil mercaptano para proporcionar el Compuesto 4 que tiene la fórmula:



o una sal de este;

- 15 b) tratar el Compuesto 4 con anhídrido glutárico en presencia de una enzima para proporcionar una mezcla del Compuesto 2 y el Compuesto 3;



o sales de estos; y

- c) reducir el Compuesto 2 para proporcionar el Compuesto 1.

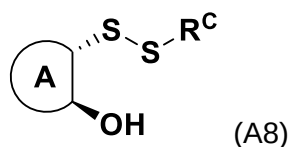
- 20 En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa.

También se proporciona en la presente descripción un compuesto de Fórmula (A1) preparado mediante cualquiera de los procesos para preparar un compuesto de Fórmula (A1) descritos en este documento.

Preparación del Compuesto A8 y el Compuesto 8

En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula A8, que es un enlazador de conjugados que es útil para preparar conjugados como agentes terapéuticos.

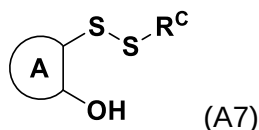
En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A8):



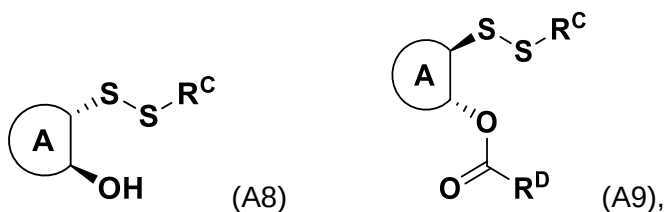
o una sal de este, en donde:

el anillo A es cicloalquilo C₅₋₇ o heterocicloalquilo de 5-7 miembros;

R^C es arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C₆₋₁₀ y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁₋₄, halo, CN, NO₂, OH y OCH₃, que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A7)



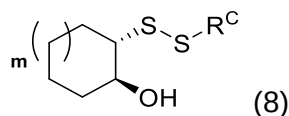
o una sal de este, con Ak2, en donde Ak2 es un reactivo acilante, en presencia de una enzima para proporcionar una mezcla de un compuesto de Fórmula (A8) y un compuesto de Fórmula (A9);



o sales de estos, en donde R^D es alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido con COOH.

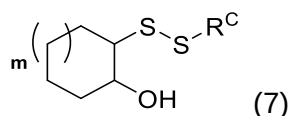
En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar el Compuesto 8, que es un enlazador de conjugados que es útil para preparar conjugados como agentes terapéuticos.

En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (8):

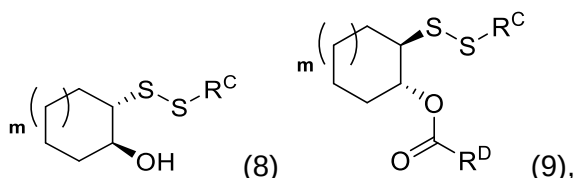


o una sal de este, en donde m es 0, 1 o 2, y R^C es arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C₆₋₁₀ y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁₋₄, halo, CN, NO₂, OH y OCH₃,

que comprende hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (7)



o una sal de este, con Ak2, en donde Ak2 es un reactivo acilante, en presencia de una enzima para proporcionar una mezcla de un compuesto de Fórmula (8) y un compuesto de Fórmula (9);



o sales de estos, en donde R^D es alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido con COOH.

Los compuestos de Fórmula (A7) y Fórmula (7), y los procesos para prepararlos, se describen en la publicación de patente de EE. UU. n.º US 2019/209580, la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/925,094 y la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/924,445.

En algunas modalidades, m es 0. En algunas modalidades, m es 1. En algunas modalidades, m es 2.

En algunas modalidades, Ak2 es anhídrido glutárico, anhídrido succínico o acetato de isopropenilo. En algunas modalidades, Ak2 es anhídrido glutárico. En algunas modalidades, Ak2 es anhídrido succínico. En algunas modalidades, Ak2 es acetato de isopropenilo.

En algunas modalidades, R^C es arilo C₆₋₁₀ o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en

donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 . En algunas modalidades, R^C es heteroarilo de 5-10 miembros opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 . En algunas modalidades, R^C es heteroarilo de 5-10 miembros. En algunas modalidades, R^C es piridinilo.

En algunas modalidades, R^D es CH_3 , CH_2CH_2COOH o $CH_2CH_2CH_2COOH$. En algunas modalidades, R^D es CH_3 . En algunas modalidades, R^D es CH_2CH_2COOH . En algunas modalidades, R^D es $CH_2CH_2CH_2COOH$.

En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa.

En algunas modalidades, la enzima se inmoviliza sobre un soporte sólido (es decir, se une a un sólido que es insoluble en el medio de reacción). La enzima puede unirse al soporte sólido mediante, por ejemplo, unión covalente a grupos funcionales en el soporte sólido, adsorción en el soporte sólido y atrapamiento o encapsulación en el soporte sólido. La inmovilización en un sustrato sólido puede aumentar la estabilidad de la enzima y facilitar la recuperación de productos y el reciclaje de enzimas. En algunas modalidades, el soporte sólido es sílice o un óxido inorgánico. En algunas modalidades, el soporte sólido es un carbón activado o un carbón vegetal modificado o sin modificar. En algunas modalidades, el soporte sólido es un polímero sintético (por ejemplo, película de polipropileno activado con plasma amino y carboxilo; y copolímeros de metacrilato). En algunas modalidades, el soporte sólido es Immobead. En algunas modalidades, el soporte sólido es una resina de intercambio iónico (por ejemplo, Amberlite y Sepabeads). En algunas modalidades, el soporte sólido es gel de sílice. En algunas modalidades, el soporte sólido es poliestireno. En algunas modalidades, el soporte sólido son nanocristales de celulosa. En algunas modalidades, el soporte sólido es quitosano. En algunas modalidades, el soporte sólido es una perla acrílica. Las técnicas de inmovilización de enzimas son bien conocidas en la técnica. Consulte Zdarta, J., "A General Overview of Support Materials for Enzyme Immobilization: Characteristics, Properties, Practical Utility," *Catalysts* 2018, 8, 92, 1-27; y Miletic, N., "Immobilization of *Candida antarctica* lipase B on polystyrene nanoparticles," *Macromolecular Rapid Communications*, 2010, 31(1):71-74.

En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de una fuente bacteriana o fúngica. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de una fuente fúngica. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de una fuente bacteriana. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de *Candida antarctica*, *Rhizomucor miehei*, *Thermomyces lanuginosa*, *Candida rugosa*,

Pseudomonas cepacia, *Pseudomonas fluorescens*, *Rhizopus oryzae*, *Mucor javanicus*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus niveus*, *Alcaligenes* sp., Resinase HT, Lipex 100L, Stickaway de Novozymes, *Candida cylindracea* sp., o *Bacillus subtilis*. En algunas modalidades, la enzima es una enzima lipasa derivada de *Candida antarctica*. En algunas modalidades, la enzima es

5 lipasa B de *Candida antarctica*. Las enzimas pueden obtenerse de Novozymes, Genencor, Sigma-Aldrich, c-Lecta, Aum Enzymes e inmovilizarse en un sustrato sólido como, por ejemplo, Immobead COV-1.

En algunas modalidades, la enzima se selecciona de una de las siguientes:

lipasa A de *Candida antarctica* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

10 lipasa B de *Candida antarctica* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa B genérica de *Candida antarctica* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Rhizomucor miehei* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Thermomyces lanuginosa* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Candida rugosa* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

15 lipasa de *Pseudomonas cepacia* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Pseudomonas fluorescens* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Rhizopus oryzae* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Mucor javanicus* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Aspergillus niger* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

20 lipasa de *Rhizopus niveus* unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Alcaligenes* sp. unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa Resinase HT unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa Lipex 100L unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

25 lipasa de *Fusarium solani* pisi, Novozyme 51032 unida covalentemente a perlas acrílicas secas;

lipasa de *Candida cylindracea* sp. unida covalentemente a perlas acrílicas secas; y

lipasa de *Bacillus subtilis* unida covalentemente a perlas acrílicas secas.

En algunas modalidades, la enzima se selecciona de una de las siguientes:

30 Producto n.º IMMCALA-T2-150 de ChiralVision;

Producto n.º IMMCALB-T2-150 de ChiralVision;

Producto n.º IMMCALBY-T2-150 de ChiralVision;

Producto n.º IMMRML-T2-150 de ChiralVision;

- Producto n.º IMMTLL-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMCRL-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMABC-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMAPP-T2-150 de ChiralVision;
 5 Producto n.º IMMARO-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMAMJ-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMANA-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMRNA-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMASMQ-T2-150 de ChiralVision;
 10 Producto n.º IMMRES-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMLIPX-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMML51-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMCCMO-T2-150 de ChiralVision;
 Producto n.º IMMAULI-T2-150 de ChiralVision; y
 15 Producto n.º CaLB-ADS4 de ChiralVision,

En algunas modalidades, la enzima es el Producto n.º IMMCALB-T2-150 de ChiralVision. En algunas modalidades, la enzima es el Producto n.º CaLB-ADS4 de ChiralVision.

- El tratamiento de un compuesto de Fórmula (A7) con Ak2 se puede realizar a una
 20 temperatura entre aproximadamente 15 °C y aproximadamente 20 °C. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (A7) con Ak2 se realiza a temperatura ambiente.

- El tratamiento de un compuesto de Fórmula (A7) con Ak2 se puede realizar durante un período de aproximadamente 12 h a aproximadamente 60 h. En algunas modalidades, el
 25 tratamiento de un compuesto de Fórmula (A7) con Ak2 se realiza durante un período de aproximadamente 24 h a aproximadamente 48 h. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (A7) con Ak2 se realiza durante un período de aproximadamente 48 h. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (A7) con Ak2 se realiza durante un período de aproximadamente 42 h.

- El tratamiento de un compuesto de Fórmula (A7) con Ak1 se puede realizar en presencia de S4, en donde S4 es un disolvente. En algunas modalidades, S4 es un disolvente de éter. En algunas modalidades, S4 es metil terc-butil éter. En algunas modalidades, S4 es 2-metiltetrahidrofurano.
- 30

El proceso puede comprender además la etapa de separar el compuesto de Fórmula (A8) del compuesto de Fórmula (A9). En algunas modalidades, la separación comprende tratar la mezcla con una base acuosa y separar la capa acuosa de la mezcla. En algunas modalidades, la base acuosa es carbonato de sodio acuoso.

5 En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 25 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 50 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 70 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 80 %. En
10 algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 90 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 95 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 99 %.

15 El tratamiento de un compuesto de Fórmula (7) con Ak2 se puede realizar a una temperatura entre aproximadamente 15 °C y aproximadamente 20 °C. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (7) con Ak2 se realiza a temperatura ambiente.

20 El tratamiento de un compuesto de Fórmula (7) con Ak2 se puede realizar durante un período de aproximadamente 12 h a aproximadamente 60 h. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (7) con Ak2 se realiza durante un período de aproximadamente 24 h a aproximadamente 48 h. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (7) con Ak2 se realiza durante un período de aproximadamente 48 h. En algunas modalidades, el tratamiento de un compuesto de Fórmula (7) con Ak2 se realiza durante un período de aproximadamente 42 h.

25 El tratamiento de un compuesto de Fórmula (7) con Ak1 se puede realizar en presencia de S4, en donde S4 es un disolvente. En algunas modalidades, S4 es un disolvente de éter. En algunas modalidades, S4 es metil terc-butil éter. En algunas modalidades, S4 es 2-metiltetrahidrofurano.

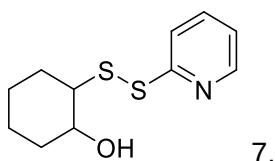
30 El proceso puede comprender además la etapa de separar el compuesto de Fórmula (8) del compuesto de Fórmula (9). En algunas modalidades, la separación comprende tratar la mezcla con una base acuosa y separar la capa acuosa de la mezcla. En algunas modalidades, la base acuosa es carbonato de sodio acuoso.

En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (8) se aísla en un exceso

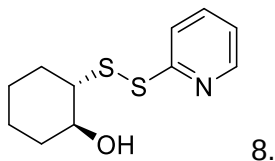
enantiomérico superior al 25 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 50 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 70 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 80 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 90 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 95 %. En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (8) se aísla en un exceso enantiomérico superior al 99 %.

En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A7) es el Compuesto 7:

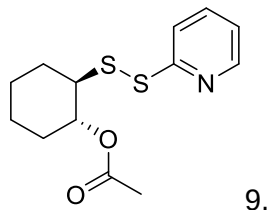
10



En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A8) es el Compuesto 8:

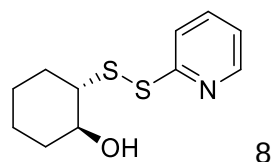


En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A9) es el Compuesto 9:

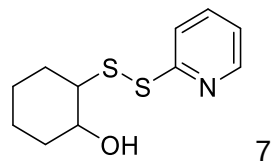


15

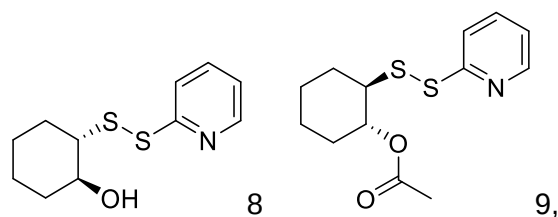
En otra modalidad, se proporciona en la presente descripción un proceso para preparar el Compuesto 8 que tiene la fórmula:



o una sal de este, que comprende hacer reaccionar el Compuesto 7 que tiene la fórmula:



o una sal de este, con acetato de isopropenilo en presencia de una enzima para proporcionar una mezcla del Compuesto 8 y el Compuesto 9;



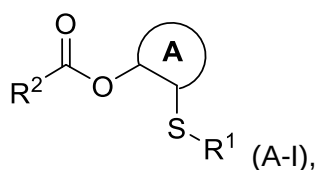
o sales de estos.

- 5 En algunas modalidades, el Compuesto 8 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 25 %. En algunas modalidades, el Compuesto 8 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 50 %. En algunas modalidades, el Compuesto 8 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 70 %. En algunas modalidades, el Compuesto 8 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 80 %. En algunas modalidades, el Compuesto 8 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 90 %. En algunas modalidades, el Compuesto 8 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 95 %. En algunas modalidades, el Compuesto 8 se aísla en un exceso enantiomérico superior al 99 %.

- 10 También se proporciona en la presente descripción un compuesto de Fórmula (A8) preparado mediante cualquiera de los procesos para preparar un compuesto de Fórmula (A8)
- 15 descritos en este documento.

Preparación de un compuesto de Fórmula (I)

En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (A-I):

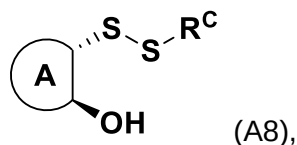


- 20 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde el anillo A es un grupo cicloalquilo C₅₋₇ o un grupo heterocicloalquilo de 5-7 miembros; R¹ es un resto de direccionamiento; y R² es un resto terapéutico;

- 25 que comprende:

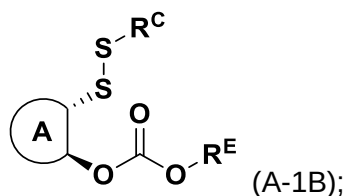
a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A1), o una sal de este, que se prepara mediante el proceso descrito en el presente documento, con R^C-S-S-R^C para proporcionar un

compuesto de Fórmula (A8)



o una sal de este, en donde R^C es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 ;

b) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A8), o una sal de este, con $R^E OC(O)R^F$, para proporcionar un compuesto de Fórmula (A-1B)

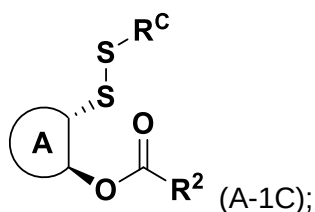


o una sal de este, en donde:

R^E es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 , y

R^F es halo o OR^{F1} , en donde OR^{F1} es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 ;

c) hacer reaccionar el compuesto de fórmula (A-1B) o una sal de este, con R^2H para proporcionar un compuesto de Fórmula (A-1C)

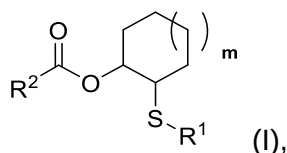


o una sal de este; y

d) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (A-1C), o una sal de este, con R^1H para proporcionar un compuesto de Fórmula (A-I).

5

En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (I):



10 o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde

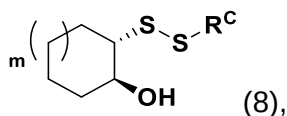
R^1 es un resto de direccionamiento;

R^2 es un resto terapéutico;

m es 0, 1 o 2;

que comprende:

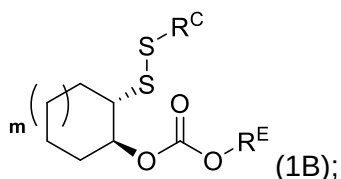
15 a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (1), o una sal de este, que se prepara mediante el proceso descrito en el presente documento, con $R^C-S-S-R^C$ para proporcionar un compuesto de Fórmula (8)



20 o una sal de este, en donde R^C es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 ;

b) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (8), o una sal de este, con $R^E OC(O)R^F$, para proporcionar un compuesto de Fórmula (1B)

25

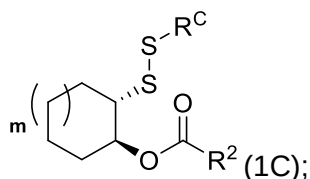


o una sal de este, en donde:

R^E es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 , y

R^F es halo o OR^{F1} , en donde OR^{F1} es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 ;

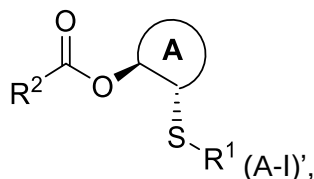
c) hacer reaccionar el compuesto de fórmula (1B) o una sal de este, con R^2H para proporcionar un compuesto de Fórmula (1C)



o una sal de este; y

d) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (1C), o una sal de este, con R^1H para proporcionar un compuesto de Fórmula (I).

En algunas modalidades, el compuesto de Fórmula (A-I) tiene la Fórmula (A-I)':



o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En algunas modalidades, m es 0. En algunas modalidades, m es 1. En algunas modalidades, m es 2.

En algunas modalidades, R^C es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros. En algunas modalidades, R^C es heteroarilo de 5-10 miembros opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 . En algunas modalidades, R^C es heteroarilo de 5-10 miembros. En algunas modalidades, R^C es piridinilo.

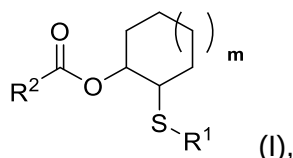
5 En algunas modalidades, R^C es piridin-2-ilo.

En algunas modalidades, R^E es arilo C_{6-10} opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 . En algunas modalidades, R^E es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 . En algunas modalidades, R^E es fenilo sustituido con NO_2 .

En algunas modalidades, R^F es halo. En algunas modalidades, R^F es cloro. En algunas modalidades, R^F es arilo C_{6-10} opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4, o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH, y OCH_3 . En algunas modalidades, R^F es fenilo opcionalmente sustituido con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 . En algunas modalidades, R^F es fenilo sustituido con NO_2 .

En algunas modalidades, $R^C-S-S-R^C$ es carbonato de bis(5-nitrofenilo).

En la presente descripción se proporciona un proceso para preparar un compuesto de Fórmula (I):



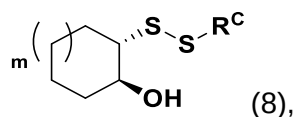
o una sal farmacéuticamente aceptable de este, en donde

R^1 es un resto de direccionamiento; y

R^2 es un resto terapéutico;

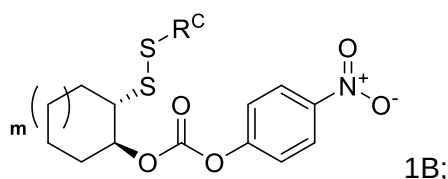
25 que comprende:

a) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (1), o una sal de este, que se prepara mediante un proceso descrito en el presente documento, con $R^C-S-S-R^C$ para proporcionar un compuesto de Fórmula (8)



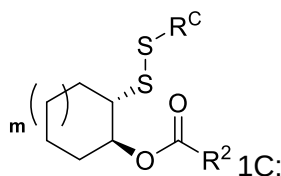
o una sal de este, en donde R^C es arilo C_{6-10} o heteroarilo de 5-10 miembros; en donde el heteroarilo de 5-10 miembros tiene al menos un átomo de carbono formador de anillo y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos formadores de anillo seleccionados independientemente de N, O y S; y en donde el arilo C_{6-10} y el heteroarilo de 5-10 miembros están cada uno opcionalmente sustituidos con 1, 2, 3, 4 o 5 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_{1-4} , halo, CN, NO_2 , OH y OCH_3 ;

b) hacer reaccionar el Compuesto 1A, o una sal de este, con carbonato de bis(4-nitrofenilo) para proporcionar el Compuesto 1B que tiene la fórmula:



o una sal de este;

c) hacer reaccionar el Compuesto 1B, o una sal de este, con R^2H para proporcionar el Compuesto 1C que tiene la fórmula:



o una sal de este;

d) hacer reaccionar un compuesto de Fórmula (1C), o una sal de este, con R^1H para proporcionar un compuesto de Fórmula (I).

El resto de direccionamiento puede tener afinidad por un tipo particular de célula o tejido donde la presencia de niveles anormales de un biomarcador puede estar asociada con uno o más estados patológicos particulares. Los biomarcadores típicos incluyen proteínas de la superficie celular (por ejemplo, receptores) que incluyen, entre otros, el receptor de transferrina; receptor de LDL; receptores de factor de crecimiento tales como miembros de la familia de receptores de factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, EGFR, Her2, Her3, Her4) o receptores de factor de crecimiento endotelial vascular, receptores de citocinas, moléculas de adhesión celular, integrinas, selectinas y moléculas de CD. El marcador puede ser una molécula que esté presente exclusivamente o en cantidades mayores en una célula maligna, por ejemplo, un antígeno tumoral. En algunas modalidades, el resto de direccionamiento es un anticuerpo, o fragmento de anticuerpo, que tiene especificidad por un

antígeno expresado en una célula diana, o en un sitio diana, de interés. Se ha identificado una amplia variedad de antígenos específicos de tumores u otras enfermedades y se han utilizado o propuesto anticuerpos contra esos antígenos para su uso en el tratamiento de dichos tumores u otras enfermedades. Los anticuerpos que se conocen en la técnica se pueden
 5 utilizar en los compuestos de la invención, en particular para el tratamiento de la enfermedad con la que está asociado el antígeno diana.

En algunas modalidades, el resto de direccionamiento es un anticuerpo, un fragmento de anticuerpo, un anticuerpo biespecífico u otra molécula o compuesto basado en anticuerpos. En otras modalidades, el resto de direccionamiento puede ser un aptámero, un avímero, un
 10 ligando de unión a receptor, un ácido nucleico, un par de unión biotina-avidina y similares.

En algunas modalidades, el resto de direccionamiento es un péptido. En algunas modalidades, el péptido tiene de 10 a 50 aminoácidos, de 20 a 40 aminoácidos, de 10 a 20 aminoácidos, de 20 a 30 aminoácidos o de 30 a 40 aminoácidos.

En algunas modalidades, el resto de direccionamiento es un péptido
 15 conformacionalmente restringido. Un péptido conformacionalmente restringido puede incluir, por ejemplo, péptidos macrocíclicos y péptidos grapados. Un péptido grapado es un péptido restringido por un enlace covalente entre dos cadenas laterales de aminoácidos, formando un macrociclo peptídico. Los péptidos restringidos conformacionalmente se describen, por ejemplo, en Guerlavais et al., Annual Reports in Medicinal Chemistry 2014, 49, 331-345; Chang
 20 et al., Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (2013), 110(36), E3445-E3454; Tesaro et al., Molecules 2019, 24, 351-377; Dougherty et al., Journal of Medicinal Chemistry (2019), 62(22), 10098-10107; y Dougherty et al., Chemical Reviews (2019), 119(17), 10241-10287, cada uno de los cuales se incorpora en la presente descripción por referencia en su totalidad.

25 En algunas modalidades, el resto de direccionamiento es un péptido sensible al medio ambiente descrito, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. n.º 8,076,451 y 9,289,508 y la publicación de patente de EE. UU. n.º 2019/209580 (cada una de las cuales se incorpora en la presente descripción por referencia en su totalidad), aunque podrían usarse otros péptidos capaces de dicha inserción selectiva. Otros péptidos adecuados se describen, por ejemplo, en
 30 Weerakkody, et al., PNAS 110 (15), 5834-5839 (9 de abril de 2013), que también se incorpora en la presente descripción por referencia en su totalidad. Sin estar ligado a ninguna teoría, se cree que el péptido ambientalmente sensible experimenta un cambio conformacional y se inserta a través de las membranas celulares en respuesta a cambios fisiológicos (por ejemplo,

pH). El péptido puede dirigirse al tejido ácido y translocar selectivamente moléculas polares impermeables a las células a través de las membranas celulares en respuesta a un pH extracelular bajo. En algunas modalidades, el péptido es capaz de administrar selectivamente moléculas a través de una membrana celular que tiene un manto ácido o hipóxico que tiene un pH inferior a aproximadamente 6,0. En algunas modalidades, el péptido es capaz de administrar selectivamente una molécula a través de una membrana celular que tiene un manto ácido o hipóxico que tiene un pH inferior a aproximadamente 6,5. En algunas modalidades, el péptido es capaz de administrar selectivamente una molécula a través de una membrana celular que tiene un manto ácido o hipóxico que tiene un pH inferior a aproximadamente 5,5. En algunas modalidades, el péptido es capaz de administrar selectivamente una molécula a través de una membrana celular que tiene un manto ácido o hipóxico que tiene un pH entre aproximadamente 5,0 y aproximadamente 6,0.

El término "manto ácido y/o hipóxico" se refiere al entorno de la célula en el tejido enfermo en cuestión que tiene un pH inferior a 7,0 y preferiblemente inferior a 6,5. Un manto ácido o hipóxico tiene más preferiblemente un pH de aproximadamente 5,5 y lo más preferiblemente tiene un pH de aproximadamente 5,0. Los compuestos de fórmula (I) se insertan a través de una membrana celular con un manto ácido y/o hipóxico de forma dependiente del pH para insertar R^{2-} en la célula, tras lo cual el enlace disulfuro se escinde para suministrar R^2H libre. Dado que los compuestos de fórmula (I) dependen del pH, se insertan preferentemente a través de una membrana celular solo en presencia de un manto ácido o hipóxico que rodee a la célula y no a través de la membrana celular de células "normales", que no tienen un manto ácido o hipóxico. Un ejemplo de una célula que tiene un manto ácido o hipóxico es una célula cancerosa.

Los términos "sensible al pH" o "dependiente del pH", tal como se utilizan en la presente descripción para referirse al péptido R^1 o al modo de inserción del péptido R^1 o de los compuestos de la invención a través de una membrana celular, significan que el péptido tiene una mayor afinidad por una bicapa lipídica de membrana celular que tiene un manto ácido o hipóxico que una bicapa lipídica de membrana a pH neutro. Por lo tanto, los compuestos de la invención se insertan preferentemente a través de la membrana celular para insertar R^{2-} en el interior de la célula (y así liberar R^2H como se ha descrito anteriormente) cuando la bicapa lipídica de la membrana celular tiene un manto ácido o hipóxico (una célula "enferma"), pero no se insertan a través de una membrana celular cuando el manto (el entorno de la bicapa lipídica de la membrana celular) no es ácido o hipóxico (una célula "normal"). Se cree que esta

inserción preferencial se logra como resultado de que el péptido R¹ forma una configuración helicoidal, lo que facilita la inserción en la membrana.

En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende al menos una de las siguientes secuencias:

- 5 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1),
 AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2);
 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3);
 Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGKCG (SEQ ID NO. 4; Pv4); y
 AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC (SEQ ID No. 5; Pv5).

- 10 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende al menos una de las siguientes secuencias:

 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1),
 AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2), y
 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3).

- 15 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1).

 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2).

- 20 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3).

 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 Ac-AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGKCG (SEQ ID NO. 4; Pv4).

 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGTC (SEQ ID NO. 5; Pv5).

- 25 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWCG (SEQ ID NO. 1; Pv1).

 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 AEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADECG (SEQ ID NO. 2; Pv2).

- 30 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 ADDQNPWRAYLDLLFPTDTLLLDLLWDADECG (SEQ ID NO. 3; Pv3).

 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia
 AAEQNPIYWARYADWLFTTPLLLLDLALLVDADEGKCG (SEQ ID NO. 4; Pv4).

 En algunas modalidades, el péptido ambientalmente sensible comprende la secuencia

AAEQNPYIYWAYADWLFTTPLLDDALLVDADEGTC (SEQ ID NO. 5; Pv5).

Se describen péptidos ambientalmente sensibles adicionales en la publicación de patente de EE. UU. n.º US 2019/209580, la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/925,094 y la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/924,445, cada una de las cuales se incorpora en la presente descripción en su totalidad.

El término "resto terapéutico" se refiere a un resto (por ejemplo, R^2 -) derivado de una molécula o agente terapéutico. Las moléculas terapéuticas adecuadas (por ejemplo, R^2H) para usar en la invención incluyen inhibidores de PARP, inhibidores de topoisomerasa I y restos dirigidos a microtúbulos de molécula pequeña, que pueden tener efectos secundarios indeseables cuando se administran sistémicamente debido a su posible efecto nocivo sobre el tejido normal.

Actualmente se comercializan tres inhibidores de PARP (olaparib, rucaparib y niraparib) y hay otros en fase de desarrollo, como AG-014699 (Agouron/Pfizer), KU-0059436 (KuDOS/AstraZeneca), INO-1001 (Inotek/Genentech), NT-125 (ahora E-7449; Eisai; 3H-piridazino[3,4,5-de]quinazolin-3-ona, 8-[(1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)metil]-1,2-dihidro-), 2X-121 (2X Oncology; 3H-piridazino[3,4,5-de]quinazolin-3-ona, 8-[(1,3-dihidro-2H-isoindol-2-il)metil]-1,2-dihidro-), y ABT-888 (Abbvie). Los inhibidores de PARP se describen en (por ejemplo) las patentes de EE. UU. 6,100,283; 6,310,082; 6,495,541; 6,548,494; 6,696,437; 7,151,102; 7,196,085; 7,449,464; 7,692,006; 7,781,596; 8,067,613; 8,071,623; y 8,697,736, cuyas patentes se incorporan en la presente descripción por referencia en su totalidad.

Los compuestos de Fórmula (I) que contienen un resto inhibidor de PARP se describen en la publicación de patente de EE. UU. n.º US 2019/209580.

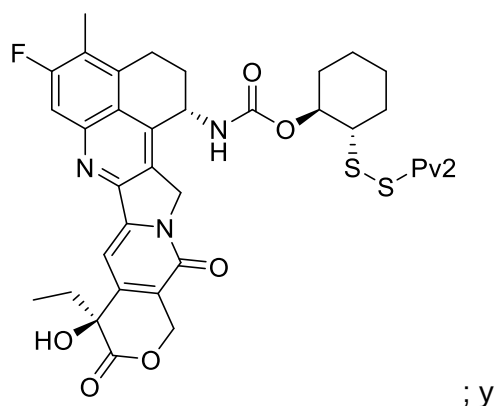
La expresión "resto de direccionamiento de la topoisomerasa I de molécula pequeña" o "inhibidor de la topoisomerasa I" se refiere a un grupo químico que se une a la topoisomerasa I. El resto de direccionamiento de la topoisomerasa I de molécula pequeña puede ser un grupo derivado de un compuesto que inhibe la actividad de la topoisomerasa I. Los inhibidores de la topoisomerasa incluyen camptotecina y sus derivados y análogos, como opotecán, irinotecán (CPT-11), silatecán (DB-67, AR-67), cositecán (BNP-1350), lurtotecán, gimitecán (ST1481), belotecán (CKD-602), rubitecán, topotecán, deruxtecán y exatecán. Los inhibidores de topoisomerasa se describen, por ejemplo, en Ogitani, Bioorg. Med. Chem. Lett. 26 (2016), 5069-5072; Kumazawa, E., Cancer Chemother Pharmacol 1998, 42: 210-220; Tahara, M, Mol Cancer Ther 2014, 13(5): 1170-1180; Nakada, T., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2016, 26: 1542-1545.

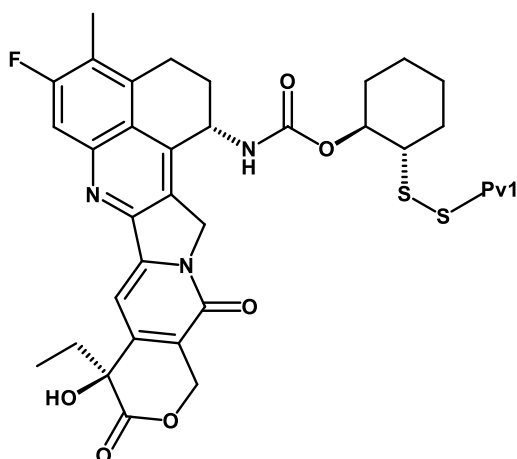
Los compuestos de Fórmula (I) que tienen un resto dirigido a la topoisomerasa I se describen en la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/925,094. En algunas modalidades de compuestos de Fórmula (I), R² es camptotecina, opotecán, irinotecán (CPT-11), silatecán (DB-67, AR-67), cositecán (BNP-1350), lurtotecán, gimatecán (ST1481), belotecán (CKD-602), rubitecán, topotecán, deruxtecán o exatecán. En algunas modalidades de compuestos de Fórmula (I), R² es exatecán.

Los restos de direccionamiento de microtúbulos (por ejemplo, R²) pueden ser compuestos citotóxicos como los maitansinoides que pueden tener efectos secundarios indeseables cuando se administran sistémicamente debido a su posible efecto nocivo en el tejido normal. Los agentes de moléculas pequeñas dirigidos a los microtúbulos incluyen, entre otros, maitansinoides, aclitaxel, docetaxel, epotilonas, discodermolida, alcaloides de la vinca, colchicina, combretastatinas y derivados y análogos de los anteriores. Los agentes dirigidos a microtúbulos se describen en Tangutur, A. D., Current Topics in Medicinal Chemistry, 2017 17(22): 2523-2537. Los agentes dirigidos a microtúbulos también incluyen maitansinoides, como maitansina (DM1) y derivados y análogos de estos, que se describen en Lopus, M, Cancer Lett., 2011, 307(2): 113-118; y Widdison, W., J. Med. Chem. 2006, 49:4392-4408.

Los compuestos de Fórmula (I) que tienen un resto de direccionamiento de microtúbulos se describen en la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/924,445. En algunas modalidades, R² es un maitansinoide. En algunas modalidades, R² es DM1 o DM4. En algunas modalidades, R² es DM1. En algunas modalidades, R² es DM4.

En algunas modalidades, el compuesto de la fórmula (I) se selecciona de:





Las moléculas de la invención se pueden marcar, por ejemplo, con una sonda tal como un fluoróforo, un radioisótopo y similares. En algunas modalidades, la sonda es una sonda fluorescente, como LICOR. Una sonda fluorescente puede incluir cualquier resto que pueda volver a emitir luz tras la excitación de la luz (por ejemplo, un fluoróforo).

Se aprecia además que ciertas características de la invención, que, para mayor claridad, se describen en el contexto de modalidades separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola modalidad (mientras que las modalidades están destinadas a combinarse como si estuvieran escritas en forma dependiente múltiple). A la inversa, diversas características de la invención que, por razones de brevedad, se describen en el contexto de una sola modalidad, también se pueden proporcionar por separado o en cualquier subcombinación adecuada. Por lo tanto, se contempla que las características descritas como modalidades de los compuestos de Fórmula (I) se pueden combinar en cualquier combinación adecuada.

Como se usa en la presente descripción, "aproximadamente" significa $\pm 20\%$ del valor indicado, e incluye más específicamente valores de $\pm 10\%$, $\pm 5\%$, $\pm 2\%$ y $\pm 1\%$ del valor indicado.

Como se usa en este documento, la expresión "hacer reaccionar" o "poner en contacto" cuando se describe un determinado proceso se usa como se conoce en la técnica y generalmente se refiere a unir reactivos químicos de tal manera que permita su interacción en el nivel molecular para lograr una transformación química o física. En algunas modalidades, la reacción implica dos reactivos, en los que se utilizan uno o más equivalentes del segundo reactivo con respecto al primer reactivo. Las etapas de reacción de los procesos descritos en

este documento se pueden realizar durante un tiempo y en condiciones adecuadas para preparar el producto identificado.

El término "base" se refiere a un compuesto que es un donante de un par de electrones en una reacción ácido-base.

- 5 El término "ácido" se refiere a un compuesto que es un aceptor de un par de electrones en una reacción ácido-base.

Las reacciones de los procesos descritos en el presente documento pueden llevarse a cabo en disolventes adecuados que pueden ser fácilmente seleccionados por un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los disolventes adecuados pueden ser sustancialmente no reactivos con los materiales de partida (reactivos), los intermedios o los productos a las temperaturas a las que se llevan a cabo las reacciones, por ejemplo, temperaturas que pueden variar desde la temperatura de congelación del disolvente hasta la temperatura de ebullición del disolvente. Una reacción dada puede llevarse a cabo en un disolvente o en una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de reacción particular, se pueden seleccionar los disolventes adecuados para una etapa de reacción particular. En algunas modalidades, las reacciones se pueden llevar a cabo en ausencia de disolvente, como cuando al menos uno de los reactivos es un líquido o un gas.

Los disolventes adecuados pueden incluir disolventes halogenados como tetracloruro de carbono, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromoformo, cloroformo, bromoclorometano, dibromometano, cloruro de butilo, diclorometano (cloruro de metileno), tetracloroetileno, tricloroetileno, 1,1,1-tricloroetano, 1,1,2- tricloroetano, 1,1-dicloroetano, 2-cloropropano, 1,1,1-trifluorotolueno, 1,2-dicloroetano, 1,2-dibromoetano, hexafluorobenceno, 1,2,4-triclorobenceno, 1,2-diclorobenceno, clorobenceno, fluorobenceno, mezclas de estos y similares.

25 Los disolventes de éter adecuados incluyen: dimetoximetano, tetrahidrofurano, ciclopentil metil éter, 1,3-dioxano, 1,4-dioxano, furano, tetrahidrofurano (THF), éter dietílico, éter dimetílico de etilenglicol, éter dietílico de etilenglicol, éter dimetílico de dietilenglicol (diglima), éter dietílico de dietilenglicol, éter dimetílico de trietilenglicol, anisol, éter metil *terc*-butílico, mezclas de estos y similares.

30 El término "reactivo acilante" se refiere a un compuesto que aporta un grupo carbonilo a una posición nucleófila de un compuesto reactivo. Por ejemplo, un grupo carbonilo electrofílico puede reaccionar con un átomo nucleófilo de O o N. Los ejemplos de reactivos de acilación incluyen acetato de isopropenilo, anhídrido succínico y anhídrido glutárico.

El término "agente reductor" se refiere a un compuesto que aporta un hidruro a una posición electrófila de un compuesto reactivo tal como un carbono insaturado (*por ejemplo*, carbono de un resto carbonilo o un resto imina). Por ejemplo, el agente reductor puede aportar un hidruro a un compuesto reactante convirtiendo un compuesto reactante que contiene amida en un compuesto producto amina, convirtiendo un compuesto reactante que contiene imina en un compuesto producto amina, convirtiendo un compuesto reactante que contiene cetona en un compuesto producto alcohol o convirtiendo un compuesto reactante que contiene éster en un compuesto producto alcohol.

Las reacciones de los procesos descritos en la presente pueden llevarse a cabo al aire o bajo atmósfera inerte. Típicamente, las reacciones que contienen reactivos o productos que son sustancialmente reactivos con el aire pueden llevarse a cabo usando técnicas sintéticas sensibles al aire que son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Los procesos descritos en este documento pueden controlarse de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación de productos puede controlarse por medios espectroscópicos, como espectroscopia de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, ^1H o ^{13}C), espectroscopia infrarroja, espectrofotometría (por ejemplo, UV-visible) o espectrometría de masas; o por cromatografía tal como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía en capa fina. Los compuestos obtenidos por las reacciones se pueden purificar mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica. Por ejemplo, cromatografía (presión media) sobre un adsorbente adecuado (por ejemplo, gel de sílice, alúmina y similares), HPLC o cromatografía en capa fina preparativa; destilación; sublimación, trituración o recristalización. La pureza de los compuestos, en general, se determina por métodos físicos como la medición del punto de fusión (en el caso de un sólido), la obtención de un espectro de RMN o la realización de una separación por HPLC. Si el punto de fusión disminuye, si las señales no deseadas en el espectro de RMN disminuyen o si se eliminan los picos extraños en una traza de HPLC, se puede decir que el compuesto se ha purificado. En algunas modalidades, los compuestos se purifican sustancialmente.

La expresión "temperatura ambiente", como se usa en la presente, se entienden en la técnica y se refieren generalmente a una temperatura, *por ejemplo*, una temperatura de reacción, que es aproximadamente la temperatura de la habitación en la que se lleva a cabo la reacción, por ejemplo, una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.

En varios lugares de la presente memoria descriptiva, ciertas características de los compuestos se describen en grupos o en rangos. Se pretende específicamente que tal descripción incluya todas y cada una de las subcombinaciones individuales de los miembros de tales grupos y rangos. Por ejemplo, el término "alquilo C_{1-6} " pretende específicamente describir individualmente (sin limitación) metilo, etilo, alquilo C_3 , alquilo C_4 , alquilo C_5 y alquilo C_6 .

El término "de n miembros", donde n es un número entero, describe típicamente el número de átomos que forman anillos en una fracción donde el número de átomos que forman anillos es n. Por ejemplo, piperidinilo es un ejemplo de un anillo heterocicloalquilo de 6 miembros, pirazolilo es un ejemplo de un anillo heteroarilo de 5 miembros, piridilo es un ejemplo de un anillo heteroarilo de 6 miembros y 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno es un ejemplo de un grupo cicloalquilo de 10 miembros.

El término "sustituido" significa que un átomo o grupo de átomos reemplaza formalmente al hidrógeno como "sustituyente" unido a otro grupo. El término "sustituido", a menos que se indique lo contrario, se refiere a cualquier nivel de sustitución, *por ejemplo*, mono-, di-, tri-, tetra- o penta-sustitución, donde dicha sustitución está permitida. Los sustituyentes se seleccionan independientemente y la sustitución puede estar en cualquier posición químicamente accesible. Debe entenderse que la sustitución en un átomo dado está limitada por la valencia. Debe entenderse que la sustitución en un átomo dado da como resultado una molécula químicamente estable. La frase "opcionalmente sustituido" significa sin sustituir o sustituido. El término "sustituido" significa que se elimina un átomo de hidrógeno y se reemplaza por un sustituyente. Un solo sustituyente divalente, *por ejemplo*, oxo, puede reemplazar dos átomos de hidrógeno.

El término " C_{n-m} " indica un rango que incluye los extremos, en donde n y m son números enteros e indican el número de carbonos. Los ejemplos incluyen C_{1-4} , C_{1-6} y similares.

El término "alquilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo hidrocarburo saturado que puede ser de cadena lineal o ramificada. El término "alquilo C_{n-m} " se refiere a un grupo alquilo que tiene de n a m átomos de carbono. Un grupo alquilo corresponde formalmente a un alcano con un enlace C-H sustituido por el punto de unión del grupo alquilo al resto del compuesto. En algunas modalidades, el grupo alquilo contiene de 1 a 6 átomos de carbono, de 1 a 4 átomos de carbono, de 1 a 3 átomos de carbono o de 1 a 2 átomos de carbono. Los ejemplos de restos alquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos químicos tales como metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, isobutilo,

sec-butilo; homólogos superiores tales como 2-metil-1-butilo, *n*-pentilo, 3-pentilo, *n*-hexilo, 1,2,2-trimetilpropilo y similares.

El término "alquenilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada que corresponde a un grupo alquilo que tiene uno o más enlaces dobles carbono-carbono. Un grupo alquenilo corresponde formalmente a un alqueno con un enlace C-H sustituido por el punto de unión del grupo alquenilo al resto del compuesto. El término "alquenilo C_{n-m}" se refiere a un grupo alquenilo que tiene *n* a *m* carbonos. En algunas modalidades, el resto alquenilo contiene de 2 a 6, de 2 a 4 o de 2 a 3 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquenilo incluyen, pero no se limitan a, etenilo, *n*-propenilo, isopropenilo, *n*-butenilo, sec-butenilo y similares.

El término "alquinilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo hidrocarbonado de cadena lineal o ramificada que corresponde a un grupo alquilo que tiene uno o más enlaces triples carbono-carbono. Un grupo alquinilo corresponde formalmente a un alquino con un enlace C-H sustituido por el punto de unión del grupo alquilo al resto del compuesto. El término "alquinilo C_{n-m}" se refiere a un grupo alquinilo que tiene *n* a *m* carbonos. Los grupos alquinilo de ejemplo incluyen, pero no se limitan a, etinilo, propin-1-ilo, propin-2-ilo y similares. En algunas modalidades, el resto alquinilo contiene de 2 a 6, de 2 a 4 o de 2 a 3 átomos de carbono.

El término "alquilenilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo de enlace alquilo divalente. Un grupo alquilenilo corresponde formalmente a un alcano con dos enlaces C-H sustituidos por puntos de unión del grupo alquilenilo al resto del compuesto. El término "alquilenilo C_{n-m}" se refiere a un grupo alquilenilo que tiene de *n* a *m* átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilenilo incluyen, entre otros, etano-1,2-diilo, etano-1,1-diilo, propan-1,3-diilo, propan-1,2-diilo, propan-1,1-diilo, butan-1,4-diilo, butan-1,3-diilo, butan-1,2-diilo, 2-metil-propan-1,3-diilo y similares.

Los términos "halo" o "halógeno", usados solos o en combinación con otros términos, se refieren a flúor, cloro, bromo y yodo. En algunas modalidades, "halo" se refiere a un átomo de halógeno seleccionado de F, Cl o Br. En algunas modalidades, los grupos halo son F.

El término "aromático" se refiere a un carbociclo o heterociclo que tiene uno o más anillos poliinsaturados de carácter aromático (es decir, con $(4n + 2)$ electrones deslocalizados π (π), donde *n* es un número entero).

El término "arilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un grupo hidrocarburo aromático, que puede ser monocíclico o policíclico (*por ejemplo*, que tiene

2 anillos condensados). El término "arilo C_{n-m}" se refiere a un grupo arilo que tiene de n a m átomos de carbono en el anillo. Los grupos arilo incluyen, *por ejemplo*, fenilo, naftilo y similares. En algunas modalidades, los grupos arilo tienen de 6 a aproximadamente 10 átomos de carbono. En algunas modalidades, los grupos arilo tienen 6 átomos de carbono. En algunas modalidades, los grupos arilo tienen 10 átomos de carbono. En algunas modalidades, el grupo arilo es fenilo.

El término "heteroarilo" o "heteroaromático", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un heterociclo aromático monocíclico o policíclico que tiene al menos un heteroátomo miembro del anillo seleccionado independientemente de azufre, oxígeno y nitrógeno. En algunas modalidades, el anillo heteroarilo tiene 1, 2, 3 o 4 heteroátomos independientemente seleccionados de nitrógeno, azufre y oxígeno. En algunas modalidades, cualquier N formador de anillo en un resto heteroarilo puede ser un N-óxido. En algunas modalidades, el heteroarilo tiene 5-14 átomos de anillo, incluidos átomos de carbono y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos de anillo seleccionados independientemente de nitrógeno, azufre y oxígeno. En algunas modalidades, el heteroarilo tiene 5-10 átomos de anillo, incluidos átomos de carbono y 1, 2, 3 o 4 heteroátomos de anillo seleccionados independientemente de nitrógeno, azufre y oxígeno. En algunas modalidades, el heteroarilo tiene 5-6 átomos de anillo y 1 o 2 heteroátomos de anillo seleccionados independientemente de nitrógeno, azufre y oxígeno. En algunas modalidades, el heteroarilo es un anillo heteroarilo de cinco o seis miembros. En otras modalidades, el heteroarilo es un anillo heteroarilo bicíclico condensado de ocho miembros, nueve miembros o diez miembros.

El término "cicloalquilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un sistema de anillos de hidrocarburos no aromáticos (monocíclicos, bicíclicos o policíclicos), incluidos los grupos alquilo y alquenilo ciclizados. El término "cicloalquilo C_{n-m}" se refiere a un cicloalquilo que tiene de n a m átomos de carbono miembros del anillo. Los grupos cicloalquilo pueden incluir grupos mono o policíclicos (*por ejemplo*, que tienen 2, 3 o 4 anillos condensados) y espirociclos. Los grupos cicloalquilo pueden tener 3, 4, 5, 6 o 7 carbonos formadores de anillo (C₃₋₇). En algunas modalidades, el grupo cicloalquilo tiene de 3 a 6 miembros de anillo, de 3 a 5 miembros de anillo o de 3 a 4 miembros de anillo. En algunas modalidades, el grupo cicloalquilo es monocíclico. En algunas modalidades, el grupo cicloalquilo es monocíclico o bicíclico. En algunas modalidades, el grupo cicloalquilo es un grupo cicloalquilo C₃₋₆ monocíclico. Los átomos de carbono formadores de anillo de un grupo cicloalquilo pueden oxidarse opcionalmente para formar un grupo oxo o sulfido. Los grupos

cicloalquilo también incluyen cicloalquilidenos. En algunas modalidades, cicloalquilo es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo. También se incluyen en la definición de cicloalquilo restos que tienen uno o más anillos aromáticos condensados (*es decir*, que tienen un enlace en común) con el anillo cicloalquilo, *por ejemplo*, derivados benzo o tienilo de ciclopentano, ciclohexano y similares. Un grupo cicloalquilo que contiene un anillo aromático fusionado se puede unir a través de cualquier átomo formador de anillo, incluido un átomo formador de anillo del anillo aromático fusionado. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

El término "heterocicloalquilo", empleado solo o en combinación con otros términos, se refiere a un anillo o sistema de anillo no aromático, que puede contener opcionalmente uno o más grupos alqueno como parte de la estructura del anillo, que tiene al menos un heteroátomo miembro del anillo seleccionado independientemente de nitrógeno, azufre, oxígeno y fósforo, y que tiene 4-10 miembros del anillo, 4-7 miembros del anillo, o 4-6 miembros del anillo. Incluidos dentro del término "heterocicloalquilo" están los grupos heterocicloalquilo monocíclicos de 4, 5, 6 y 7 miembros. Los grupos heterocicloalquilo pueden incluir sistemas de anillos monocíclicos o bicíclicos (*por ejemplo*, que tienen dos anillos fusionados o con puente) o espirocíclicos. En algunas modalidades, el grupo heterocicloalquilo es un grupo monocíclico que tiene 1, 2 o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de nitrógeno, azufre y oxígeno. Los átomos de carbono que forman el anillo y los heteroátomos de un grupo heterocicloalquilo pueden oxidarse opcionalmente para formar un grupo oxo o sulfido u otro enlace oxidado (*por ejemplo*, C(O), S(O), C(S) o S(O)₂, N-óxido *etc.*) o puede cuaternizarse un átomo de nitrógeno. El grupo heterocicloalquilo puede unirse a través de un átomo de carbono formador de anillo o un heteroátomo formador de anillo. En algunas modalidades, el grupo heterocicloalquilo contiene de 0 a 3 dobles enlaces. En algunas modalidades, el grupo heterocicloalquilo contiene de 0 a 2 dobles enlaces. También se incluyen en la definición de heterocicloalquilo las moléculas que tienen uno o más anillos aromáticos fusionados (*es decir*, que tienen un enlace en común con) al anillo heterocicloalquilo, *por ejemplo*, los derivados benzo o tienilo de la piperidina, morfina, azepina, *etc.* Un grupo heterocicloalquilo que contiene un anillo aromático fusionado se puede unir a través de cualquier átomo formador de anillo, incluido un átomo formador de anillo del anillo aromático fusionado. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen tetrahidropirano.

En ciertos lugares, las definiciones o modalidades se refieren a anillos específicos (*por*

ejemplo, un anillo de azetidina, un anillo de piridina, etc.). A menos que se indique lo contrario, estos anillos se pueden unir a cualquier miembro del anillo siempre que no se exceda la valencia del átomo. Por ejemplo, un anillo de azetidina puede estar unido en cualquier posición del anillo, mientras que un anillo de azetidina-3-ilo está unido en la posición 3.

5 Los términos "proteger" y "desproteger" como se usan en la presente en una reacción química se refieren a la inclusión de un grupo químico en un proceso y dicho grupo se elimina en una etapa posterior del proceso. El término preparación del Compuesto 1 y sus sales puede implicar la protección y desprotección de varios grupos químicos. La necesidad de protección y desprotección, y la selección de grupos protectores apropiados, puede determinarse
10 fácilmente por un experto en la técnica. La química de los grupos protectores se describe, *por ejemplo*, en Kocienski, *Protecting Groups*, (Thieme, 2007); Robertson, *Protecting Group Chemistry*, (Oxford University Press, 2000); Smith *et al.*, *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure*, 6.^a ed. (Wiley, 2007); Petursson *et al.*, "Protecting Groups in Carbohydrate Chemistry," *J. Chem. Educ.*, 1997, 74(11), 1297; y Wuts *et al.*,
15 *Protective Groups in Organic Synthesis*, 4.a ed., (Wiley, 2006). Los ejemplos de grupos protectores incluyen grupos protectores de tio.

La expresión "temperatura ambiente", como se usa en la presente, se entienden en la técnica y se refieren generalmente a una temperatura, *por ejemplo*, una temperatura de reacción, que es aproximadamente la temperatura de la habitación en la que se lleva a cabo
20 la reacción, *por ejemplo*, una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 30 °C.

La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en este documento. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto original se modifica
25 convirtiendo un resto ácido o base existente en su forma de sal. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales minerales o de ácidos orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención incluyen las sales no tóxicas del compuesto original formado, *por*
30 *ejemplo*, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto original que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, tales sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos

compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, alcoholes (*por ejemplo*, metanol, etanol, isopropanol o butanol) o acetonitrilo (MeCN). Las listas de sales adecuadas se encuentran en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, 17.^a Ed., (Mack Publishing Company, Easton, 1985), pág. 1418, Berge *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, **1977**, 66(1), 1-19 y en Stahl *et al.*, *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use*, (Wiley, 2002). En algunas modalidades, los compuestos descritos en este documento incluyen las formas de N-óxido.

10

EJEMPLOS

Tal como se utilizan en la presente descripción, todas las abreviaturas, símbolos y convenciones son coherentes con los utilizados en la literatura científica contemporánea. Véase, por ejemplo, Janet S. Dodd, ed., *The ACS Style Guide: A Manual for Authors and Editors*, 2.a ed., Washington, D.C.: American Chemical Society, 1997.

Materiales de partida y enzimas

Las enzimas se obtuvieron de Novozymes, Genencor, Sigma-Aldrich (incluidas las enzimas Amano), c-Lecta, Aum Enzymes y se inmovilizaron en Immobead COV-1. Los materiales de partida se obtuvieron de TCI y Sigma-Aldrich.

Cromatografía de gases quiral (GC)

La GC quiral se llevó a cabo utilizando un Supelco betaDEX 325 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm df), utilizando hidrógeno como gas portador a una velocidad lineal de 0,5 m/seg y operación de gradiente de temperatura (tasa de 2-10 °C/min).

Primero se eluyó el enantiómero (S,S) del acetato de 2-(acetiltio)ciclohexilo. Otros componentes no se resolvieron en GC quiral utilizando esta columna.

Tiempos de retención:

Producto	T(°C)	t _R (min; R/S)	Observaciones
2-Mercaptociclohexanol	50-210	9,9	10 °C/min
	120-210	3,79	10 °C/min
	120-160	5,8	2 °C/min

Acetato de 2-mercaptociclohexilo	120-210	4,7	10 °C/min
	120-160	7,8	2 °C/min
Acetato de 2-(acetiltio)ciclohexilo	120-210	7,3	10 °C/min
	120-160	15,7/15,5	2 °C/min
Benciltiociclohexanol	50-210	20,0	10 °C/min

GC aquiral

- La GC aquiral se utilizó para varias determinaciones de conversión y para muestras incompatibles con la columna quiral sensible. Se utilizó una columna Supelco METbiodiesel con hidrógeno como gas portador a una velocidad lineal de 0,5 m/s. Se utilizó un gradiente rápido de 50-250 °C a 20 °C/min.

Tiempos de retención:

Producto	T(°C)	t _R (min)	Observaciones
2-Mercaptociclohexanol	50-250	1,55	isómero cis 1,42 min
Benciltiociclohexanol	50-250	6,0	
2-Mercaptopiridina	50-250	2,5	amplio
Dipiridildisulfuro	50-250	6,8	
2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol	50-250	7,2	
Acetato de 2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexilo	50-250	7,8	

HPLC quiral

- La HPLC quiral se realizó con una columna ChiralPak AD3 de 250x4,6 mm, utilizando una mezcla de heptano/isopropanol/etanol. Los derivados de tioéter bencílico pudieron analizarse utilizando la mezcla heptano/isopropanol 90/10 (eluyente A), los derivados de piridildisulfuro más polares requirieron heptano/isopropanol/etanol 63/7/30 (eluyente B). La detección se realizó a 220 nm.

- Tiempos de retención:

Producto	Eluyente	t _R (min; R/S)	Observaciones
Mercaptano bencílico	A	3,9	
Benciltiociclohexanol	A	8,7/9,2	
Acetato de benciltiociclohexilo	A	5,1	No resuelto

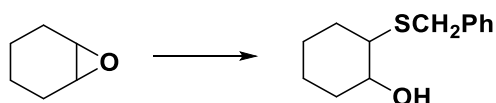
Glutarato de benciltiociclohexilo	A	10,2/14,3	Segundo pico no determinado
2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol	B	6,4/14,7	
Acetato de 2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexilo	B	7,3/5,4	
Ácido 4-oxo-4-((2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexil)oxi)butanoico	B	9,9/12,7	
Ácido 5-oxo-5-((2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexil)oxi)pentanoico	B	10,2/11,5	
2-Mercaptopiridina	B	7,1	Amplio
Dipiridildisulfuro	B	7,1	Afilado

Ejemplo 1. Síntesis de (D)-tartrato de zinc

Se disolvió ácido (D)-tartárico (150 g; 1 mol) en agua (1,5 l). Se añadió una solución de cloruro de zinc (136 g; 1 mol) en agua (1 l) y 20 ml de HCl al 3,5 % (20 ml) bajo agitación mecánica. La mezcla ácida se neutralizó a pH 4 usando hidróxido de sodio acuoso al 33 %. Se formó un precipitado y la mezcla se agitó durante otra hora. La mezcla se filtró en un filtro de vidrio P3. El sólido se lavó con agua, acetona y acetato de etilo. El sólido se secó en un horno de vacío para producir el producto deseado como un polvo blanco de alta densidad (270 g).

Alternativamente, se neutralizó el ácido (D)-tartárico (15 g; 0,1 mol) disuelto en agua desionizada (0,15 l) a pH 12 usando NaOH al 33 % (20 ml; 0,2 mol). Se añadió gota a gota una solución de cloruro de zinc (13,6 g) en agua desionizada (50 ml) con agitación mecánica. Inicialmente se formó un gel, que se transformó en suspensión lechosa. Al final de la adición, el pH se había reducido a neutro. La filtración se realizó utilizando un filtro de vidrio P3 (durante aproximadamente 1 h) y el sólido se lavó con agua desionizada, acetona y acetato de etilo. El secado al vacío en un horno produjo un polvo blanco esponjoso (22 g).

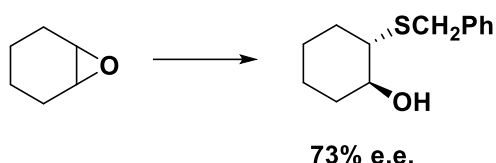
Ejemplo 2. Síntesis de 2-benciltiociclohexanol racémico



El mercaptano bencílico (1,24 g; 10 mmol) y el óxido de ciclohexeno (1,9 g; 19 mmol)

se disolvieron en 2-metiltetrahidrofurano. Se añadió *N*-metilmorfolina (0,5 ml). No se produjo ninguna reacción durante la noche. La adición de solución de etóxido sódico (1 ml al 20 %) produjo una reacción rápida (50 % en 1 h, conversión completa del mercaptano). El trabajo acuoso y la evaporación produjeron un aceite amarillo (2,18 g). El aceite se destiló a presión reducida utilizando un aparato Kugelrohr (horno 145 °C/ < 1 mbar), obteniéndose un aceite transparente (1,89 g; 8,5 mmol; 85 %). HPLC: 2 picos de 8,7 m (*R,R*) y 9,2 m (*S,S*) usando Chiralpak AD3 con heptano/isopropanol 90/10. Detección UV a 220 nm.

Ejemplo 3. 2-benciltiociclohexanol enriquecido



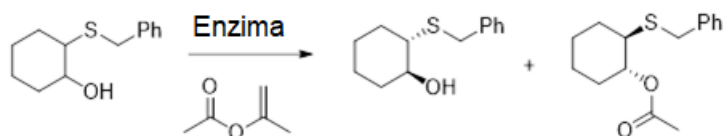
Se cargó un reactor de 5 l con (D)-tartrato de zinc (263 g), diclorometano (2 l), bencilmercaptano (124 g; 1 mol) y óxido de ciclohexeno (147 g; 1,5 eq.). La reacción se colocó bajo una atmósfera de Ar. La mezcla se agitó durante 5 días (dando como resultado una conversión de mercaptano > 99 %) y se filtró después de 7 días. El filtrado se evaporó y se transfirió a un matraz más pequeño usando acetato de etilo. La evaporación y la destilación a alto vacío produjeron un aceite transparente e incoloro (215 g). HPLC: 87 % (*S,S*) [75 % e.e] y 1 % otros componentes.

El catalizador de (D)-tartrato de zinc podría reutilizarse. Se cargó un reactor de 2 l con catalizador de (D)-tartrato de zinc recuperado (468 g), diclorometano (1 l), bencilmercaptano (124 g; 1 mol) y óxido de ciclohexeno (147 g; 1,5 eq.). La reacción se colocó bajo una atmósfera de Ar. La mezcla se agitó durante 1 día (dando como resultado una conversión de mercaptano > 99 %) y se filtró. El filtrado se evaporó y se transfirió a un matraz más pequeño usando acetato de etilo. La evaporación produjo un aceite transparente e incoloro (225 g). HPLC: 85 % (*S,S*) [73 % e.e] y 1 % otros componentes.

Ejemplo 4. Experimento de selección de enzimas

Se añadió una cantidad de 20-25 mg de enzima a un vial de 2 ml. A esto se añadió 2-benciltiociclohexanol racémico (22 mg), disuelto en 1 ml de MTBE anhidro que contenía 5 % en volumen de acetato de isopropenilo. El vial se cerró y se agitó a 24 °C durante 16 h en un agitador termostatzado. Después de la incubación, se realizó el análisis por HPLC quiral utilizando Chiralpak AD3, 100x dil en fase móvil; heptano/isopropanol (90/10). Los resultados

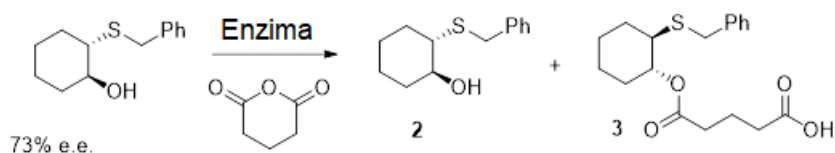
de la selección se muestran en la siguiente tabla.



Entrada	Enzima	Fuente	Conv	Sustrato ee	E (est)
1	IMMCALA-T2-150	Candida antarctica, A	21 %	6,6 %	< 2
2	IMMCALB-T2-150	Candida antarctica, B	49 %	>99,8 %	>1000
3	IMMCALBY-T2-150	Candida antarctica, B	49 %	>99,8 %	>1000
4	IMMRML-T2-150	Rhizomucor miehei	2 %		
5	IMMTLL-T2-150	Thermomyces lanuginosa	47 %	91,3 %	>500
6	IMMCRL-T2-150	Candida rugosa	7 %		
7	IMMABC-T2-150	Pseudomonas cepacia	48 %	96,5 %	>500
8	IMMAPF-T2-150	Pseudomonas fluorescens	49 %	98,9 %	>500
9	IMMARO-T2-150	Rhizopus oryzae	16 %	20 %	
10	IMMAMJ-T2-150	Mucor javanicus	12 %	16 %	
11	IMMANA-T2-150	Aspergillus niger	7 %		
12	IMMRNA-T2-150	Rhizopus niveus	<1 %		
13	IMMASMQ-T2-150	Alcaligenes sp.	8 %		
14	IMMRES-T2-150	Resinase HT	49 %	99,3 %	>500
15	IMMLIPX-T2-	Lipex 100L	49 %	99,5 %	>1000

	150				
16	IMML51-T2-150	Stickaway de Novozymes	50 %	99,1 %	>300
17	IMMCCMO-T2- 150	Candida cylindracea sp.	7 %		
18	IMMAULI-T2- 150	Bacillus subtilis	30 %	44 %	>100

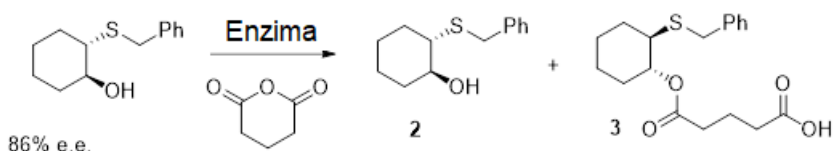
Otros estudios que emplearon anhídridos cíclicos (por ejemplo, anhídrido glutárico y anhídrido succínico) también fueron efectivos.



5 Se usó anhídrido glutárico en lugar de acetato de isopropenilo en el experimento de selección de enzimas anterior. El uso de la enzima CaL-B-T2 permitió la eliminación selectiva de *R* para proporcionar una mezcla 85:15 del Compuesto 2 y el Compuesto 3. El Compuesto 3 se eliminó de la mezcla de reacción mediante extracción de base con NH_3 2 M seguida de un lavado de base suave (por ejemplo, Na_2CO_3 acuoso). El producto se secó bajo Ar para producir el Compuesto 2.

10

Ejemplo 5. Resolución enzimática de 2-Benciltiociclohexanol enriquecido



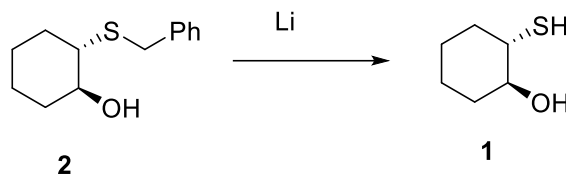
15 Se colocó 2-benciltiociclohexanol enriquecido (225 g; 86 % e.e; 1 mol) en un matraz de 2 l. Se añadieron MTBE (1,5 l), anhídrido glutárico (33 g; 0,29 mol) y enzima inmovilizada (n.º de producto CaLB-ADS4 de ChiralVision; 50 g). La mezcla se agitó a 180 rpm usando un agitador mecánico durante 2 días. Después de 1 día, el enantiómero minoritario (*R,R*) se eliminó por completo. Al día siguiente, la mezcla de reacción se filtró y la enzima se lavó con acetato de isopropilo. El filtrado se lavó con una solución acuosa de amoníaco 2 M (0,5 l) y

20 una solución acuosa de carbonato sódico 1,25 M (0,5 l). La fase orgánica se aisló, se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó para proporcionar el Compuesto 2 como un aceite incoloro

ligeramente turbio (172 g; 76 %).

HPLC: 98,0 %, 100,0 % e.e. Se detectó aproximadamente un 1,1 % de disulfuro de dibencilo.

Ejemplo 6. Escisión reductiva del Compuesto 2

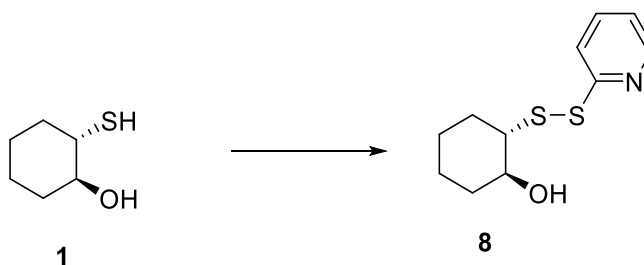


5

Se colocó (S,S)-2-benciltiociclohexanol destilado (11,1 g; 50 mmol) en un matraz de fondo redondo seco de 250 ml en atmósfera de argón y se disolvió en 100 ml de 2-metiltetrahidrofurano anhidro. Con agitación mecánica, se añadieron granos de litio (1,4 g en total; 200 mmol) en 2 porciones. La reacción se enfrió en un baño de agua. La agitación durante la noche a temperatura ambiente produjo una suspensión gris. Esta suspensión, que contenía un exceso de litio sin reaccionar, se vertió en 100 ml de agua fría. Después de la inactivación completa del litio metálico, la solución transparente se separó en fases. La fase acuosa que contenía la sal de litio del producto deseado (pH > 11) se acidificó con ácido cítrico sólido (10 g) a pH 5. La extracción con 100 ml de acetato de etilo, el secado sobre sulfato de sodio y la evaporación cuidadosa produjeron (S,S)-2-mercaptociclohexanol como un aceite amarillo claro (5 g; 38 mmol; 76 %). GC: >99 %. $[\alpha]_D^{25}$: +42 ° (c=1 en MeOH)).

15

Ejemplo 7. (S,S)-2-Piridin-2-ildisulfaneil)ciclohexanol



20

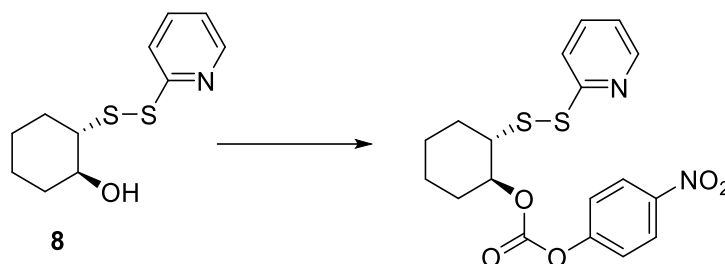
Se disolvió (S,S)-2-Mercaptociclohexanol (7,0 g; 53 mmol) en 50 ml de metanol bajo argón y se añadió gota a gota a una solución de disulfuro de dipiridilo (12 g; 55 mmol) en metanol (100 ml). Después de 1,5 horas, la mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad y el residuo se mezcló con MTBE (100 ml). La 2-mercaptopiridina precipitada se eliminó por filtración y el filtrado transparente se lavó con solución de carbonato de sodio 1 M (2x 100 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó hasta obtener un aceite amarillo (13 g). El aceite se trituró con 100 ml de n-heptano hasta obtener un sólido marrón claro (11 g (86 %); GC:

25

91 %).

El sólido se purificó por disolución en MTBE (25 ml), se mezcló con 50 ml de heptano y se sembró con el producto deseado (las semillas se obtuvieron, por ejemplo, de la Etapa 1 del Ejemplo 9). Se formó un polvo cristalino blanco. La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se filtró. El sólido se lavó con n-heptano (25 ml). Un cuidadoso secado al vacío produjo un polvo blanco (7,6 g; 31,5 mmol; 59 % de rendimiento de mercaptociclohexanol; 44 % de rendimiento de 2-benciltiociclohexanol). GC: 99,0 %; HPLC: 99,8 %; HPLC quiral: 100 % e.e.; mp: 70-72 °C; $[\alpha]_D$: -146° (c=1 en MeOH).

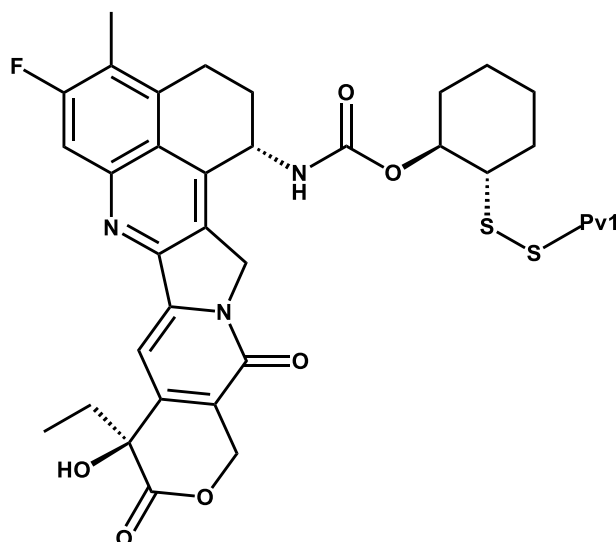
10 Ejemplo 8. (S,S)-2-piridin-2-ildisulfaneil)ciclohexil)carbonato de 4-nitrofenilo



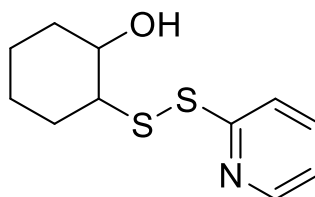
Se colocó (S,S)-2-Piridin-2-ildisulfaneil)ciclohexanol (4,8 g; 20 mmol) en un matraz seco en atmósfera de argón y se disolvió en 80 ml de diclorometano anhidro. Se añadió piridina (5 ml; 60 mmol; 3 eq.). Se añadió gota a gota una solución de cloroformato de 4-nitrofenilo (4,08 g; 20,2 mmol) en 40 ml de diclorometano anhidro bajo argón durante aproximadamente 1 hora a temperatura ambiente. La muestra de HPLC mostró un 2 % de (S,S)-2-piridin-2-ildisulfaneil)ciclohexanol residual, un 3 % de carbonato de bis(4-nitrofenilo) y un 95 % de producto deseado. La agitación adicional durante 1 hora no aumentó la conversión. La mezcla se inactivó con agua (10 ml) y se lavó con ácido clorhídrico acuoso 0,5 M (100 ml), bicarbonato de sodio acuoso saturado (25 ml) y se secó sobre sulfato de sodio. La evaporación produjo un aceite amarillo (8,4 g). Este aceite se disolvió en una mezcla de MTBE (35 ml) y n-heptano (50 ml). El calentamiento a 50 °C y el enfriamiento lento a 30 °C con agitación y siembra produjeron una suspensión espesa. Esto se diluyó adicionalmente con n-heptano (20 ml) y se enfrió en un baño de hielo. El precipitado se filtró, se lavó con n-heptano (30 ml) y se dejó secar al vacío para producir el producto deseado como un polvo blanco (16,3 mmol; 81 %). HPLC: 99,4 %; HPLC quiral: 99,2 % de pureza, 100 % e.e.; pf: 77-79 °C; $[\alpha]_D$: +104° (c=1 en MeOH).

Ejemplo 9. Síntesis del Conjugado 1

El Conjugado 1 se puede preparar de acuerdo con el proceso descrito en el Ejemplo 11 de la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/925,094, utilizando el Compuesto 1 ((1S,2S)-2-mercaptociclohexano-1-ol) en lugar del 2-mercaptociclohexano-1-ol racémico. A
5 continuación se reproduce el Ejemplo 11 de la solicitud de patente de EE. UU. n.º 16/925,094.



Etapas 1. Síntesis de 2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol

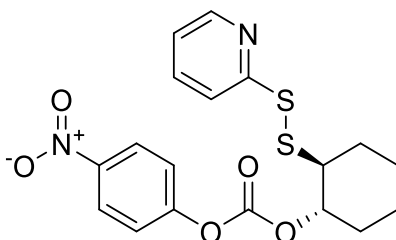


A una solución de 1,2-di(piridin-2-il)disulfano (15,2 g, 68,9 mmol) en MeOH (desgasificado con N₂) (30 ml) se le añadió 2-mercaptociclohexano-1-ol (11,4 g, 86,2 mmol) (desgasificado con N₂) gota a gota y se agitó durante 16 h a temperatura ambiente bajo atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se concentró hasta sequedad al vacío. El material
10 bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna utilizando EtOAc al
15 30 %/hexanos para proporcionar el compuesto del título como un líquido amarillo. ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,54-8,53 (m, 1H), 7,60-7,56 (m, 1H), 7,40-7,38 (m, 1H), 7,17-7,14 (m, 1H), 3,38-3,34 (m, 1H), 2,62-2,57 (m, 1H), 2,11-2,02 (m, 1H), 1,75-1,74 (m, 2H), 1,61-1,60 (m, 1H), 1,42-1,24 (m, 4H).

El compuesto del título se sometió a condiciones de HPLC quiral preparativa (Chiralpak
20 IGno : 250 mm x 20 mm x 5 mic; *n*-Hexano : IPA con 0,1 % de dietilamina (80:20); 19 ml/min;

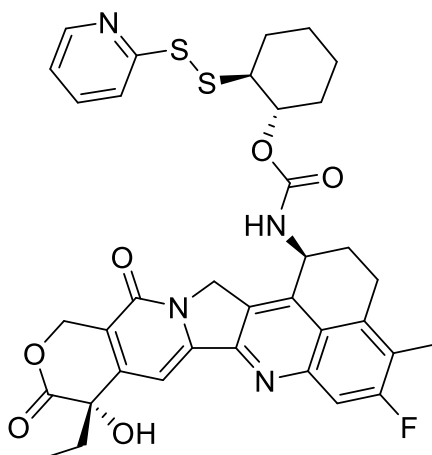
25 °C (temperatura ambiente). (1R,2R)-2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol (4,5 g, 18,6 mmol) eluyó primero (tiempo de retención: 3,9 minutos), seguido de (1S,2S)-2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol (tiempo de retención: 11,3 minutos). La estereoquímica absoluta se confirmó por comparación del producto de la Etapa 2 con material quiral que tiene una estereoquímica absoluta informada (ver Monaco, M. R.; J. Am. Chem. Soc. 2014, 136, 49, 16982-16985).

Etapa 2. Síntesis de carbonato de 4-nitrofenilo ((1S,2S)-2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexilo).



A una solución de (1R,2R)-2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol (4,5 g, 18,6 mmol) en DMF (90,0 ml) se añadió DIPEA (10,3 ml, 56,0 mmol) y carbonato de bis(4-nitrofenil) (11,35 g, 27,3 mmol) a temperatura ambiente. El recipiente de reacción se selló y se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se controló por TLC (EtOAc al 20 %/hexanos). Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se inactivó con agua (20,0 ml) y se extrajo con EtOAc (20,0 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a presión reducida para obtener el producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna utilizando 20-30 % EtOAc/hexanos para obtener el producto principal como un sólido blanquecino (5,0 g, 66 % de rendimiento). ¹HNMR (400 MHz, CDCl₃): δ 8,44 (d, J = 4 Hz, 1H), 8,28 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,72 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,61-7,57 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,41 (d, J = 9,6 Hz, 2H), 7,08-7,05 (t, J = 5,2 Hz, 1H), 4,85-4,74 (m, 1H), 3,03-2,92 (m, 1H), 2,28 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 2,20-2,12 (m, 1H), 1,85-1,62 (m, 3H), 1,45-1,25 (m, 3H). LC-MS m/z calculado: 406,7; encontrado: 407,4 [M+H]⁺.

Etapa 3. Síntesis de [(1S,2S)-2-(2-piridildisulfanil)ciclohexil] N-[(10S,23S)-10-etil-18-fluoro-10-hidroxi-19-metil-5,9-dioxo-8-oxa-4,15-diazahexaciclo[14,7.1.02,14.04,13.06,11.020,24]tetracosa-1,6(11),12,14,16(24),17,19-heptaen-23-il]carbamato.



Al ácido (10S,23S)-23-amino-10-etil-18-fluoro-10-hidroxi-19-metil-8-oxa-4,15-diazahexaciclo[14,7.1.02,14.04,13.06,11.020,24]tetracosa-1,6(11),12,14,16(24),17,19-heptaeno-5,9-diona metanosulfónico (250 mg, 0,470 mmol) en 10 ml de DMF seca se añadió
 5 carbonato de 4-nitrofenilo ((1S,2S)-2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexilo) (de la Etapa 2; 191 mg, 0,470 mmol), N,N-diisopropiletilamina (122 mg, 0,941 mmol) y DMAP (115 mg, 0,941 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LC-MS indicó que se había formado el producto de acoplamiento deseado. A continuación, la mezcla de reacción se diluyó con EtOAc, se lavó con NH₄Cl acuoso saturado, H₂O y salmuera. La mezcla se secó sobre
 10 sulfato de sodio, se filtró y se concentró. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía en columna utilizando MeOH al 0-5 %/diclorometano para dar 240 mg del producto deseado con un rendimiento del 72,6 % (240 mg).

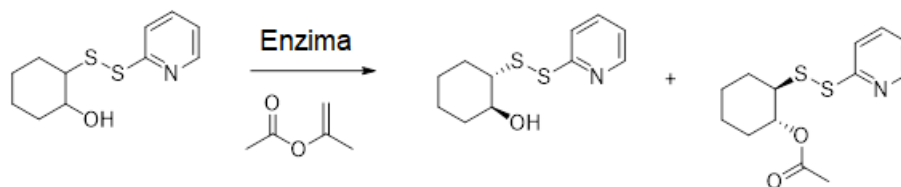
Etapa 4. Acoplamiento con Pv1 (Compuesto 11)

15 En un vial se añadió Pv1 (275 mg, 0,0811 mmol), el compuesto de la Etapa 3 (74,1 mg, 0,105 mmol), acetonitrilo (10 ml) y agua (5 ml). A esta mezcla se añadió n-Metilmorfolina (0,303 g, 0,0030 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La LC-MS indicó que se había formado el producto acoplado deseado.

La mezcla de reacción se purificó directamente mediante HPLC de fase inversa (20-
 20 85 % de acetonitrilo/agua, 0,5 % de ácido acético en una columna Sunfire Prep C18 (10 µm, 50x150 mm), tiempo de retención: 7,022 min) para dar 213 mg del deseado producto con un rendimiento del 68 % (213 mg). ESI (M+3H/3)³⁺: 1291,6

Ejemplo 10: Selección de enzimas de sustrato alternativo

Se añadió una cantidad de 20-25 mg de enzima a un vial de 2 ml. A esto se añadió 2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol racémico (12 mg), disuelto en 1 ml de 2-metiltetrahidrofurano que contenía 5 % en volumen de acetato de isopropenilo. El vial se cerró y se agitó a 21 °C durante 2 días en un agitador termostatzado. Después de la incubación, se realizó el análisis por HPLC quiral utilizando Chiralpak AD3, 100x dil en fase móvil; heptano/isopropanol/etanol (63/7/30). Los resultados de la selección se muestran en la siguiente tabla.



10

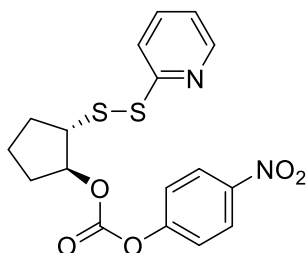
Entrada	Enzima	m(mg)	t(h)	Conv (área)	Sustrato e.e.	Producto e.e.	E
1	IMMCALA-T2-150	22,3	42	7 %	-	8 %	1,2
2	IMMCALB-T2-150	20,1	24	50 %	99,3 %	>99,9 %	
			42	50,5 %	>99,9 %	>99,9 %	>15000
3	IMMCALBY-T2-150	20,1	42	49,1 %	93 %	>99,8 %	>5000
4	IMMRML-T2-150	20,3	42	0 %			
5	IMMTLL-T2-150	22,4	42	6 %		>99 %	>200
6	IMMCRL-T2-150	20,3	42	0 %			
7	IMMABC-T2-150	22,7	42	8 %		>99 %	>200
8	IMMAPF-T2-150	20,5	42	12 %		>99 %	>200
9	IMMARO-T2-150	21,0	42	0 %			
10	IMMAMJ-T2-150	22,0	42	0 %			
11	IMMANA-T2-150	20,4	42	0 %			
12 %	IMMRNA-T2-150	22,8	42	0 %			
13	IMMASMQ-T2-150	23	42	1 %			
14	IMMRES-T2-150	23,3	42	13 %		87 %	16
15	IMMLIPX-T2-150	20,7	42	19 %*		93 %	
16	IMML51-T2-150	22,3	42	39 %		97 %	130

17	IMCCMO-T2-150	21,5	42	1 %			
18	IMMAULI-T2-150	20,4	42	1 %			

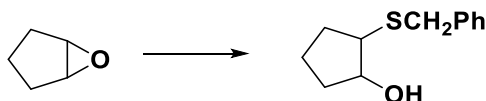
Puede usarse 2-(piridin-2-ildisulfanil)ciclohexan-1-ol enantioenriquecido en lugar de material racémico en la Etapa 6 del Ejemplo 2 para proporcionar el Conjugado 1 del Ejemplo 9.

5

Ejemplo 11: Síntesis de carbonato de 4-Nitrofenilo [(S,S)-2-(piridin-2-ildisulfaneil)ciclopentilo]



Etapa 1. Síntesis de 2-benciltiociclopentanol

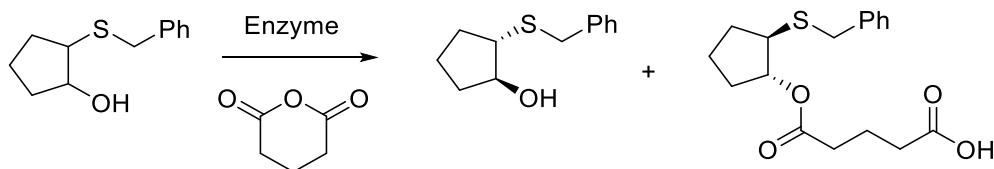


10

Se cargó un reactor de 5 L con D-tartrato de zinc (500 g), diclorometano (2 l), bencilmercaptano (127 g; 1 mol) y óxido de ciclopenteno (100 g; 1,1 eq.). La reacción se colocó bajo una atmósfera de Ar. La mezcla se agitó durante 15 días (proporcionando una conversión de mercaptano > 99 %) y se filtró. El filtrado se evaporó y se transfirió a un matraz más pequeño usando acetato de etilo. La evaporación produjo un aceite turbio (210 g; 58 % e.e.). El aceite se destiló a vacío profundo usando una configuración de destilación estándar de Claisen. Se obtuvieron cuatro fracciones a 102-108 °C/0,07-0,15 mbar.

15

Etapa 2. Síntesis de (S,S)-2-benciltiociclopentanol



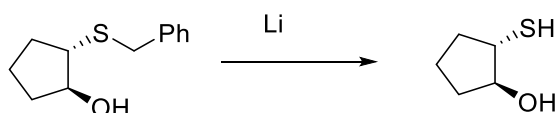
20

Se colocó 2-benciltiociclopentanol enriquecido (88 g; 58 % e.e.; 95 % de pureza previa a la destilación) en un matraz de 1 l. Se añadieron MTBE (0,6 l), anhídrido glutárico (23 g; 0,2 mol) y enzima inmovilizada (CaLB-ADS4; 10 g). La mezcla se agitó a 180 rpm usando un

agitador mecánico durante 1 día. Después de 18 h, el enantiómero minoritario (*R,R*) se eliminó por completo. La mezcla de reacción se decantó y la enzima se reutilizó en el siguiente procedimiento. La solución decantada se lavó con amoníaco acuoso (0,25 l; 2 M) y carbonato de sodio (0,1 L; 1,25 M). La fase orgánica se aisló, se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó hasta un aceite incoloro ligeramente turbio (64 g; 73 %). Este aceite se destiló en Kugelrohr en 2 porciones, lo que produjo 54 g de aceite con una pureza del 95 % según GC, que mostró un 99,8 % de e.e.

Alternativamente, se colocó 2-benciltiociclopentanol enriquecido (104 g; 57 % e.e.; 97,6 % de pureza de la serie principal de destilación) en un matraz de 1 l. Se añadieron MTBE (0,5 l), anhídrido glutárico (23 g; 0,2 mol) y enzima inmovilizada (CaLB-ADS4; 10 g recuperados y 10 g nuevos). La mezcla se agitó a 180 rpm usando un agitador mecánico durante 1 día. Después de 24 h, el enantiómero minoritario (*R,R*) se eliminó por completo. La mezcla de reacción se filtró. El filtrado se lavó con amoníaco acuoso (0,25+0,05 l; 2 M). La fase orgánica se aisló, se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó hasta un aceite incoloro ligeramente turbio (80 g; 77 %). Este aceite se destiló en Kugelrohr (horno a 175 °C/0,06 mbar) en 3 porciones, dando 74 g de aceite con una pureza del 97,5 % según GC, mostrando más del 99,8 % de e.e. $[\alpha]_D^{25}$: +14° (c=5 en DCM) ; $[\alpha]_D^{25}$: -17° (c=1 en MeOH).

Etapas 3. Síntesis de (S,S)-2-Mercaptociclopentanol



Se colocó (S,S)-2-benciltiociclopentanol destilado (21 g; 100 mmol) en un matraz de fondo redondo seco de 250 ml en atmósfera de argón y se disolvió en 200 ml de 2-metiltetrahidrofurano anhidro. Con agitación mecánica, se añadieron granos de litio (2,8 g en total; 0,4 mol). La reacción se enfrió en un baño de agua. La agitación durante la noche a temperatura ambiente produjo una suspensión gris. La GC de una muestra mostró un 15 % de área de producto. La mezcla se inactivó mediante la adición lenta de MeOH (25 ml) en 2 h. Se observó abundante desprendimiento de gas. La muestra de GC mostró una mayor conversión después de la inactivación. La inactivación adicional con etanol acuoso produjo más formación de espuma.

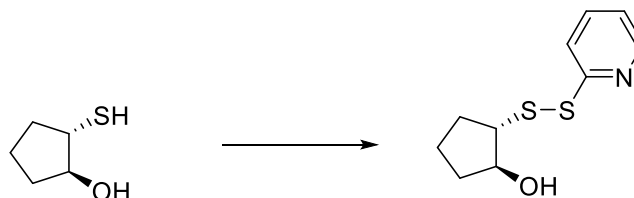
La mezcla de reacción se diluyó en 0,25 l de agua. Se eliminó la fase orgánica y se lavó la fase acuosa con EtOAc. La fase acuosa lavada se acidificó con 30 g de ácido cítrico sólido y se extrajo con EtOAc (200+100 ml). Los extractos se concentraron a presión reducida para

proporcionar un aceite acre (8 g). La destilación Kugelrohr proporcionó un aceite incoloro (1,39 g + 3,95 g).

Como alternativa, se mezcló (S,S)-2-benciltiociclopentanol destilado (21 g; 100 mmol) con MeOH (3,2 g; 100 mmol) y se disolvió en 2-metiltetrahidrofurano anhidro (25 ml). Esta solución se añadió gota a gota en 2,5 h a una suspensión de granos de litio (2,8 g; 0,4 mol) en 2-metiltetrahidrofurano anhidro (250 ml) en un matraz de fondo redondo seco de 1 l en atmósfera de argón con agitación mecánica. Después de 4 h, se añadió gota a gota una solución de MeOH (3,5 ml) en 2-metiltetrahidrofurano (50 ml) en 1 h. La mezcla se inactivó mediante la adición lenta de MeOH (10 ml) en 2-MeTHF (40 ml) en 1 h. Se observó abundante desprendimiento de gas.

La mezcla de reacción se diluyó en agua (0,3 l). La fase orgánica se eliminó y la acuosa altamente básica se lavó con 2-MeTHF. La fase acuosa lavada se acidificó con ácido cítrico sólido (30 g) y se extrajo con EtOAc (250+100 ml). Los extractos se evaporaron a presión reducida para proporcionar un aceite acre (7,5 g). La destilación Kugelrohr [horno 125-135 °C/18 mbar] proporcionó un aceite incoloro (7,0 g). GC 99,5 %. [59 mmol; 59 %]; $[\alpha]_D$: +49° (c=1 en MeOH).

Etapas 4. Síntesis de (S,S)-2-(Piridin-2-ildisulfaneil)ciclopentanol



(S,S)-2-mercaptociclopentanol (5,9 g; 50 mmol) se disolvió en metanol (50 ml) en atmósfera de argón y se añadió gota a gota durante 1 h 30 min a una solución de disulfuro de dipiridilo (10,9 g; 49 mmol) en metanol (70 ml). Después de 5 horas de agitación adicional, la mezcla de reacción se evaporó a sequedad y el residuo (17 g) se mezcló con MTBE (250 ml) y solución de hidróxido de sodio (0,2 l; 1 M). La fase orgánica se lavó con hidróxido de sodio (50 ml, 1 M), agua (50 ml), solución de bicarbonato de sodio (25 ml) y salmuera (25 ml). El extracto orgánico se secó sobre sulfato sódico y se evaporó hasta dar un aceite amarillo (11,1 g; rendimiento cuantitativo); HPLC: 100 % e.e., 8,6 % de área de DPDS.

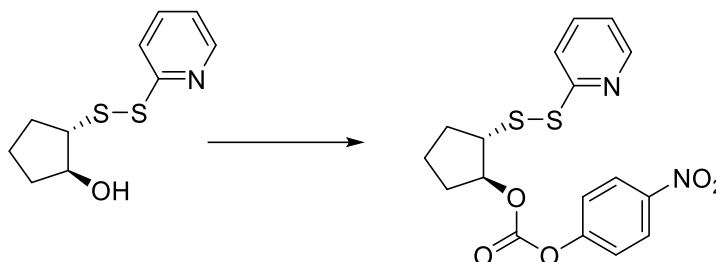
Parte del aceite (4 g) se mezcló con MTBE (8 ml) y pentano hasta que se enturbió. Esta mezcla se enfrió durante la noche a -25 °C en un congelador; se observó precipitación de aceite sin enriquecimiento/empobrecimiento de impurezas según HPLC.

El aceite se recuperó y purificó por cromatografía en columna sobre 100 g de sílice. La columna se eluyó con hexano/acetato de etilo 8:2 seguido de hexano/acetato de etilo 7:3.

El producto se aisló como un aceite ligeramente turbio, con una recuperación global del 80 %.

5 GC: >99,5 %; HPLC: 99,8 %; HPLC quiral: 100 % e.e.; $[\alpha]_D$: -46° (c=1 en EtOH).

Etapas 5. Síntesis de carbonato de 4-Nitrofenilo [(S,S)-2-(piridin-2-ildisulfaneil)ciclopentilo]



Se colocó (S,S)-2-(piridin-2-ildisulfaneil)ciclopentanol bruto (7 g; aproximadamente
 10 25 mmol) en un matraz seco en atmósfera de argón y se disolvió en diclorometano anhidro (80 ml). Se añadió piridina (5 ml; 60 mmol; 3 eq.). Se añadió gota a gota una solución de cloroformiato de 4-nitrofenilo (4,5 g; 23 mmol) en diclorometano anhidro (20 ml) bajo argón durante aproximadamente 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se inactivó con agua, se lavó con ácido clorhídrico diluido (100+50 ml; 1 M), agua y solución de bicarbonato de sodio.
 15 La filtración sobre un tapón de sulfato de sodio y la evaporación a presión reducida proporcionaron el compuesto del título como un aceite turbio (10 g, rendimiento cuantitativo). HPLC: 85 % de pureza.

Los conjugados que comprenden el resto enlazador de ciclopentilo se pueden preparar de acuerdo con los procesos descritos en el Ejemplo 11 de la solicitud de patente de EE. UU.
 20 n.º 16/925,094, así como en el Ejemplo 9 del presente documento.

Varias modificaciones de la invención, además de las descritas en este documento, serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la descripción anterior. Tales modificaciones también están destinadas a caer dentro del alcance de las reivindicaciones
 25 adjuntas. Cada referencia, incluidas, entre otras, todas las patentes, solicitudes de patentes y publicaciones, citadas en la presente solicitud, se incorporan en la presente por referencia en su totalidad.