



(19) INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
PORTUGAL

(11) *Número de Publicação:* PT 87868 B

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 5)

C07K005/02 A

A61K037/64 B

(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) *Data de depósito:* 1988.06.29

(30) *Prioridade:* 1987.07.01 US 068992

(43) *Data de publicação do pedido:*
1989.06.30

(45) *Data e BPI da concessão:*
08/94 1994.08.18

(73) *Títular(es):*

PFIZER INC.

235 EAST 42ND STREET NEW YORK, N.Y. 10017
US

(72) *Inventor(es):*

DENNIS J. HOOVER

US

ROBERT L. ROSATH

US

(74) *Mandatário(s):*

JORGE BARBOSA PEREIRA DA CRUZ

RUA DE VÍTOR CORDON 10-A 3/AND. 1200 LISBOA
PT

(54) *Epígrafe:* PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE POLOPEPTIDEOS CONTENDO HOMOCICLOSTATINA E CICLOSTATINAUTEIS COMO AGENTES ANTI-HIPERTENSIVOS

(57) *Resumo:*

[Fig.]

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 87 868

REQUERENTE: PFIZER INC., norte-americana, industrial, com sede em 235 East 42nd Street, New York, Estados Unidos da América do Norte.

EPÍGRAFE: " PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE POLIPEPTI - DEOS CONTENDO HOMOCICLOSTATINA E CICLOSTATINA ÚTEIS COMO AGENTES ANTI-HIPERTENSIVOS "

INVENTORES: Dennis Jay Hoover e Robert Louis Rosati.

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883.

Estados Unidos da América do Norte, em 01 de Julho de 1987, sob o nº. 068,992.

87.868



MEMORIA DESCRITIVA

Resumo

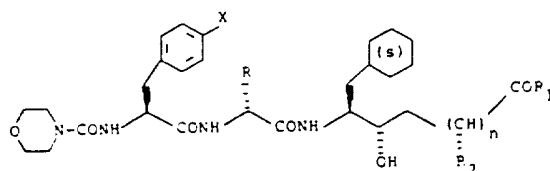
O presente invento diz respeito a um processo para a preparação de polipeptídeos e de seus derivados contendo homociclostatina e ciclostatina os quais são úteis para a inibição da acção de clivagem de angiotensinogénio pela enzima renina.

Os compostos preparados de acordo com o invento apresentam a fórmula geral

=====

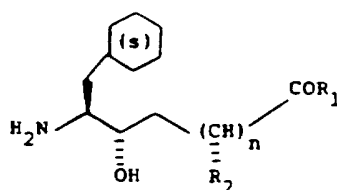
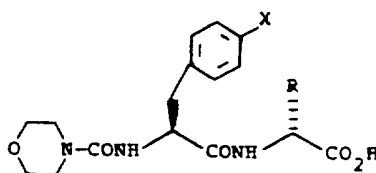
PFIZER INC.

"PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE POLIPEPTIDEOS CONTENDO HOMOCICLOSTATINA E CICLOSTATINA UTEIS COMO AGENTES ANTI-HIPERTENSIVOS"



em que X é H, OCH₃ ou OH; R é alquilo C₁-C₆, imidalol-4-ilmetilo ou metiltiometilo; n é 0 ou 1; R₁ é amino, alquil C₁-C₅-amino, alcoxi C₁-C₃ ou 2-alcoxi C₁-C₃-carbonilpirrolidin-1-ilo; e R₂ é alquilo C₃-C₄, -CH₂CH(Cl)=CH₂, -CH₂CH=CH-CH₂N₃, -(CH₂)₄NH₂, -CH₂CH(Br)=CH₂, -CH₂CH=CHCl, -CH₂CH=(CH₃)₂, -CH₂CH=CHCH₃ ou -CH₂C≡CH.

O processo de preparação consiste, por exemplo, para se formar uma ligação amida, C(O)N, por acoplamento com desidratação entre os dois compostos seguintes:





Este pedido é uma continuação em parte do pedido copendente No. de Série 068992, de 1 de Julho de 1987.

Este invento diz respeito a novos polipeptídeos úteis contendo homociclostatina e ciclostatina e agentes antihipertensivos.

A enzima renina proteolítica, que tem um peso molecular de cerca de 40.000, é produzida e segregada no sangue pelo rim. Conhece-se como sendo activa in vivo na aderência de glicoproteína angiotensinogene de ocorrência natural no plasma, no caso de angiotensinogene humano na ligação entre os resíduos aminoácidos leucina (109) e valina (119) no extremo N-terminal do angiotensinogene:

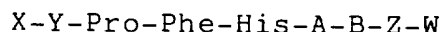
Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu-Val-Ile-His-Ser-Glu-
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

O decapeptideo N-terminal de circulação (angiotensina I) formado pela acção anterior de aderência da resina é subsequentemente partido pelo corpo num octapeptídeo conhecido como angiotensina II. A angiotensina II é conhecida como sendo uma substância de compressão potente, i.e. uma substância que é capaz de induzir um aumento significativo na pressão sanguínea e acredita-se que actua originando a contracção dos vasos sanguíneos e a libertação da hormona aldosterona retentora do sódio da glândula adrenal. Assim, o sistema renina-angiotensinogene tem sido implicado como um factor causador em certas formas de hipertensão e falhas congestivas do coração.

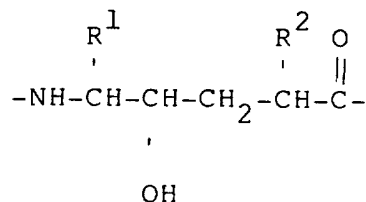
Um meio de aliviar os efeitos adversos do funcionamento do sistema renina-angiotensinogene é a administração de uma substância capaz de inibição da acção de aderência angiotensinogene da resina. Um número de tais substâncias sabe-se incluir anticorpos antirenina, pepstatina e compostos fosfolípidos de ocorrência natural. A aplicação da



Patente Europeia Nº. 45665 (publicada em 2 de Fevereiro de 1982) divulga uma série de derivados polipeptídeos inibidores da renina de fórmula



na qual X pode ser hidrogénio ou um grupo amino protector, Y pode estar ausente, B é um resíduo amino ácido lipofílico, Z é um resíduo amino ácido aromático, W pode ser hidroxil e A pode ser, inter alia,

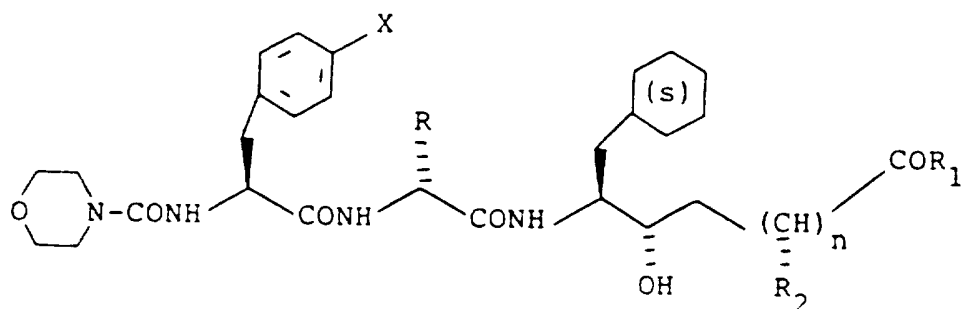


sendo cada um de R^1 e R^2 uma cadeia ramificada lipofílica ou aromática. De acordo com as definições apresentadas nesta aplicação publicada da patente, não está contemplado que quer A ou Z possam ser estatina ou que B possa ser lisina.

A Aplicação da Patente Europeia Nº. 77028A (publicada em 20 de Abril de 1983) divulga uma série de compostos polipeptídeos inibidores de renina tendo um resíduo derivado de estatina não terminal ou de estatina. Incluídos dentro desta série estão os compostos tendo uma sequência fenilalanina-histidina.

A Aplicação da Patente Europeia 132304A também divulga o uso de polipeptídeos contendo estatina como agentes antihipertensivos inibidores da renina, e a Aplicação da Patente Europeia 114993A divulga polipeptídeos contendo ciclostatina, úteis como agentes antihipertensivos inibidores de renina.

Os novos peptídeos do presente invento são da fórmula



e um seu sal farmacêuticamente aceitável em que X é hidrogénio, metoxi ou hidroxí; R é alquil de um a seis átomos de carbono, imidazol-4-ilmetil ou metiltiotimetil; n é um inteiro de 0 ou 1; R₁ é amino, alquilamino de um a cinco átomos de carbono, alcoxi de um a três átomos de carbono ou 2-alcoxi-carbonilpirrolidina-1-il, tendo o referido alcoxi de um a três átomos de carbono; e R₂ é alquil tendo de três a quatro átomos de carbono; -CH₂CH(Cl)=CH₂, -CH₂CH=CHCH₂N₃, -(CH₂)₄NH₂, -CH₂CH(Br)=CH₂, -CH₂CH=CHCl, -CH₂CH=C(CH₃)₂, -CH₂CH=CHCH₃ ou -CH₂C=CH.

Um grupo preferido de compostos á aquele em que X é hidrogénio e R é alquil tendo três a quatro átomos de carbono. Especialmente preferidos neste grupo são os compostos onde R é n-butil, n é 1, R₁ é metilamino e R₂ é i-butil, onde R é n-butil, n é 0 e R₁ é metoxi, onde R é n-butil, n é 0 e R₁ é 2-metilbutilamino e onde R é n-butil, n é 0 e R₁ é 2-metoxycarbonilpirrolidina-1-il.

Um segundo grupo de compostos preferidos são aqueles onde X é hidrogénio e R é imidazol-4-ilmetil. Especialmente preferidos dentro deste grupo são os compostos



onde $\underline{n}$ é 1, R_1 é metilamino e R_2 é i-butil, onde $\underline{n}$ é 0 e R_1 é metilamino e onde $\underline{n}$ é 0 e R_1 é metoxi.

Um terceiro grupo de compostos preferidos são aqueles onde X é hidrogénio, R é alquil tendo três a quatro átomos de carbono e $\underline{n}$ é 1. Especialmente preferidos dentro deste grupo é o composto onde R_1 é metilamino e R_2 é $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{Cl})=\text{CH}_2$.

Um quarto grupo de compostos preferidos são aqueles onde X é hidrogénio, $\underline{n}$ é 0 e R_1 é alcoxi tendo um a três átomos de carbono. Especialmente preferido dentro deste grupo é o composto onde R_1 é metoxi e R é metiltiometil.

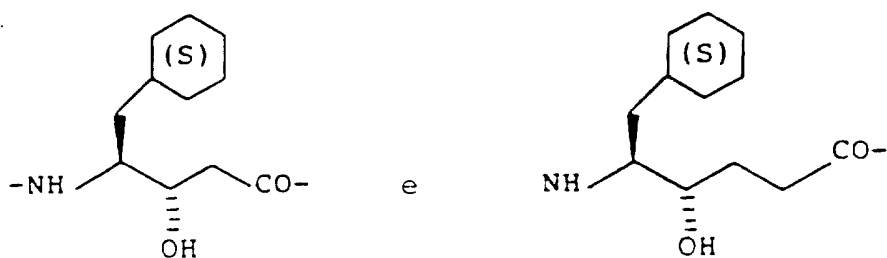
O presente invento também inclui um método para o tratamento de hipertensão num mamífero o qual compreende o tratamento do referido mamífero com uma quantidade antihipertensiva eficaz de um composto do presente invento, e uma composição farmacêutica compreendendo uma quantidade antihipertensiva eficaz de um composto do presente invento e um suporte ou diluente farmacêuticamente aceitável.

Como previamente indicado, o presente invento diz respeito a sais farmacêuticamente aceitáveis dos compostos biologicamente activos. Tais sais são aqueles que são não tóxicos nas doses administradas. Uma vez que os compostos do invento podem conter grupos básicos, são possíveis sais ácidos de adição. Sais ácidos de adição farmacêuticamente aceitáveis incluem e.g. os sais cloreto, brometo, iodeto, sulfato, bissulfato, fosfato, fosfato ácido, acetato, lactato, maleato, mesilato, fumarato, citrato, citrato ácido, tartarato, bitartarato, succinato, gluconato e sacarato.

No interesse da brevidade, o nome abreviado vulgarmente aceite dos amino ácidos individuais foi empregado onde possível. Por exemplo, o amino ácido fenilala-

nina é abreviado como Phe, histidina como His, lisina como Lis, e norleucina como Nle, etc. O grupo de protecção amino t-butoxicarbonil é abreviado como Boc, benziloxycarbonil como CBZ e N-t-butoxicarbonil na imidazol de histidina como imBoc.

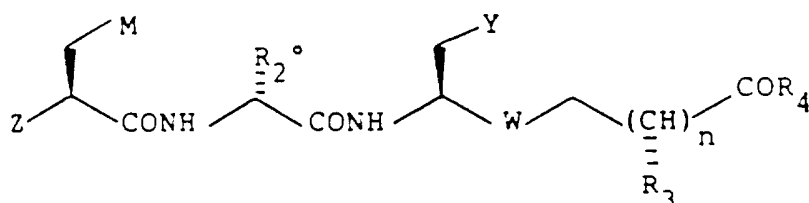
A ciclostatina e homociclostatina, que contem mais um átomo de carbono na estrutura, são de fórmula



Estas estruturas são abreviadas como C-Sta e homo-C-Sta, respectivamente.

Todo o amino ácido natural contido nas estruturas dos compostos neste momento reivindicadas são da configuração L, a configuração que ocorre naturalmente, a menos que de outro modo observado.

Além disso, o presente invento inclui compostos da fórmula



onde Z é $R_5-(A)_m-(B)_p$ - onde R_5 é (C_1-C_4) alcoxi, (C_1-C_4) alquil-amino di (C_1-C_4) -alquilamino, hidroxialquilamino, (C_1-C_4) alcoxi $COCH_2N(CH_3)-$, morfolino, piperidino, piperazino, 4-metilpiperazino, tiomorfolino, sulfóxido de tiomorfolino, sulfona de tiomorfolino, 3-oxomorfolino, 3,5-dioxomorfolino, 4- (C_1-C_4) alcanoilpiperazino, 4- (C_1-C_4) alcoxicarbonilpiperazino, ester de N-proline (C_1-C_4) alquil ou alcoxi (C_1-C_4) -

alquilamino; A é $C=O$, $P \begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow OCH_3 \end{matrix}$ ou SO_2 ; B é NH ou O; $\underline{m}$ e $\underline{p}$

são cada um 0 ou 1;

M é fenil, benzil ou naftil;

R_2^O é alquil de um a cinco átomos de carbono, alquiltioalquil de dois a quatro carbonos, alcoxialquil de dois a quatro carbonos, alquilsulfonilalquil de dois a quatro carbonos, alquilsulfinilalquil de dois a quatro carbonos, imidazol-4-ilmetil;

Y é t-butil, fenil, i-propil ou ciclohexil;

W é $C=O$ ou $C(H)OH$;

R_3 é (C_1-C_5) alquil, (C_6-C_8) cicloalquilalquil, 4-aminobutil, $CH_2C(Cl)=CH_2$, $CH_2C(Br)=CH_2$ ou $CH_2CH=CH-CH_2N_3$; e

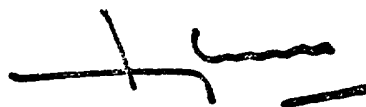
R_4 é alcoxi tendo um a quatro átomos de



carbono, alquilamino tendo um a quatro átomos de carbono, aminoalquilamino tendo dois a cinco átomos de carbono, tri-fluoroetilamino, carboxi(C₁-C₄)alquilamino, amino, di(C₁-C₄)alquilamino ou alilamino, com a condição de que quando m é 0, p é 0 e quando B é 0, A é C=O.

Os compostos deste invento apresentam actividade antihipertensiva in vivo em mamíferos, incluindo seres humanos. Pelo menos uma porção substancial desta actividade provem da sua capacidade para inibir a transferência de angiotensinogene por renina. Embora não desejemos ser limitados ao mecanismo da teoria seguinte, é provável que o mecanismo da actividade de inibição da renina dos compostos do invento seja a sua ligação selectiva (quando comparada com angiotensinogene) para a renina. Os compostos do invento exibem uma actividade de enzima inibidora que é seleccionada para a renina. Por causa dos seus baixos pesos moleculares eles exibem características de solubilidade favoráveis em meio aquoso, formando assim possível a administração ora, e podem ser sintetizados a um custo comercialmente realistico. Os compostos do presente invento são também úteis contra falha congestiva do coração.

Os compostos do invento podem ser preparados por métodos familiares aos especialistas da arte. A sub-unidade básica da síntese química preferida é a acilação do grupo alfa-amino não protegido do resíduo amino ácido com um amino ácido tendo uma função carboxilica activada (para fins de acilação) e um grupo de protecção apropriado ligado ao seu próprio alfa-azoto para formar uma ligação peptídeo entre os dois resíduos amino ácido, seguido pela remoção do referido grupo de protecção. A sub-unidade de síntese da ligação-desbloqueio é efectuada repetidamente para aumentar o polipeptídeo, partindo do extremo C-terminal como aqui descrito. Os amino ácidos utilizados para sintetizar os compostos do presente invento são comercialmente disponíveis (como ácidos livre, sais ou ésteres, etc.) em ambas as formas alfa-

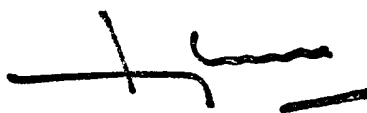


-amino protegido e alfa-amino não pretegida.

A actividade dos compostos do presente invento como inibidores da actividade de aderência angiotensinogene da renina pode ser determinada estudando a sua capacidade para inibir a actividade de aderência angiotensinogene da renina in vitro.

Os compostos do presente invento podem ser administrados como agentes antihipertensivos quer pelas vias de administração oral ou parenteral, sendo a primeira a preferida por razões de conveniência e conforto do doente. Em geral, estes compostos antihipertensivos são normalmente administrados oralmente com uma dosagem que vai de cerca de 0,5 mg a cerca de 50 mg por kg de peso do corpo por dia e 0,1 mg a cerca de 5 mg por kg de peso do corpo por dia quando administradas parenteralmente, ocorrerão necessariamente variações dependendo das condições do sujeito a ser tratado e do composto particular a ser administrado. Tipicamente, o tratamento começa com uma dose diária baixa e é aumentada pelo médico se necessário. Deve notar-se que estes compostos podem ser administrados em combinação com suportes farmacêuticamente aceitáveis por qualquer das vias previamente indicadas, e que tal administração pode ser efectuada em ambas as dosagens simples e múltiplas.

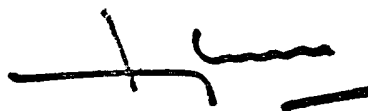
Os novos compostos do invento podem ser oralmente administrados numa ampla variedade de formas de dosagem, i.e., eles podem ser formulados com vários suportes inertes farmacêuticamente aceitáveis na forma de pastilhas, cápsulas, rebuçados, trociscos, bombons duros, pós, atomizações, suspensões aquosas, elixires, xaropes e análogos. Tais suportes incluem diluentes ou agentes de enchimento sólidos, maíais aquosos estéreis e vários solventes orgânicos não tóxicos, etc. Além disso, tais formulações farmacêuticas orais podem ser apropriadamente adocicadas e/ou aromatizadas por meio de vários agentes do tipo vulgarmente empregado para tais



fins. Em geral, os compostos deste invento estão presentes em formas de dosagem oral que os níveis de concentração variam de cerca de 0,5% a cerca de 90% em peso da composição total, em quantidades que são suficientes para fornecer as desejadas unidades de dosagem.

Para fins de administração ora, as pastilhas contendo vários excipientes tal como citrato de sódio, carbonato de cálcio e fosfato de cálcio podem ser empregadas juntamente com vários desintegrantes, desintegrantes tal como amido e de preferência amido da batata ou tapioca, ácido alginico e certo silicato complexo, juntamente com agentes ligantes tal como polivinilpirrolidona, sacarose, gelatina e acácia. Adicionalmente, agentes lubrificantes tal como estearato de magnésio, lauril sulfato de sódio e talco são composições de um tipo análogo que podem também ser empregues como agentes de enchimento em cápsulas cheias de gelatina mole ou dura; incluídos estão a lactose ou açúcar do leite bem como polietileno glicóis de alto peso molecular. Quando suspensões aquosas e/ou elixires são desejados para administração oral o seu ingrediente activo essencial pode ser combinado com vários agentes de adoçamento ou aromatização, matéria corante ou corantes e, se assim o desejarmos, emulsificação e/ou como água, etanol, propileno glicol, glicerina e várias suas combinações.

Os exemplos seguintes ilustram o invento mas não devem ser entendidos como limitado o mesmo. A cromatografia líquida de alta resolução (HPLC) foi efectuada com as condições seguintes: detecção 214 nm, coluna 4,6x250 nm Dupont zorbax C-8 com 1,5 ml/min. Os sistemas TLC são abreviados como se segue: Sistema A = acetato de etil-hexano, respectivamente, na proporção indicada, sobre sílica; Sistema B = éter-hexano, respectivamente, na proporção indicada, sobre sílica; Sistema C = 18/2/1 HCCl₃-EtOH-HOAc sobre sílica; Sistema D = 9:2:1 clorofórmio-etanol-ácido acético.



EXEMPLO 1

MorfolinocarbonilPheHis-2-isobutilhomo-C-Sta
N-metilamida (X = H, n=1, R = imidazol-4-il-
metil, R₁ = NHCH₃ e R₂ = CH₂CH(CH₃)₂)

A. éster di-t-butoxicarbonil histidina benzílico

Dissolvemos N_α-t-Boc-N_π-Boc-L-histidina (113,4 g) em 800 ml de dimetilformamida seca e a solução agitada foi tratada a 0°C com 43,9 g de carbonato de potássio anidro e 37,8 ml de brometo de benzil. A mistura foi agitada num banho de gelo o qual foi permitido atingir 20°C durante a noite. A suspensão foi filtrada através de Celite a qual foi lavada com éter, os filtrados foram concentrados e o resíduo dissolvido em 700 ml de acetato de etil. Esta solução foi lavada com 2x200 ml de cloreto de lítio aquoso 1M, 100 ml de cloreto de lítio aquoso 4M, 2x100 ml de solução de hidróxido de sódio 1N, água, água salgada, seca sobre sulfato de magnésio e concentrada originando um sólido oleoso o qual foi vigorosamente agitado com 500 ml de hexanos. O sólido filtrado foi lavado a 25°C com 2x100 ml de hexano e seco originando 120,5 g (85,5%) da substância em epígrafe como um sólido incolor, m.p. 97-99,5°C, $[\alpha]_D^{25} -6,4^\circ$

(c=1,09, CHCl₃), TLC R_f 0,35 em acetato de etil-hexano 1:1. O material recristalizou duas vezes a partir de acetato de etil-hexano 1:4 apresentou m.p. 99-106°C e $[\alpha]_D^{23} -6,6^\circ$ (c=1,25, CHCl₃).

B. Cloreto de éster histidina benzílico

O produto do Exemplo 1A foi dissolvido numa solução de 56 g de ácido clorídrico anidro em 400 ml de p-dioxano. A suspensão foi agitada a 25°C durante 24 horas. A mistura foi concentrada, o resíduo lavado com três porções



de éter no funil e seco a 56°C. in vacuo durante 10 horas originando 69,5 g de um sólido incolor, $[\alpha]_D^{25} + 6,4^\circ$ ($c=2,865$, MeOH) (assinalado em, Org. Prep. Proc. Int'l. 1970, 255, $[\alpha]_D = 6,54^\circ$).

C. Éster morfolinocarbonilPheHis benzílico

O produto do Exemplo 1B (1,37 g) foi dissolvido em 5 ml de diclorometano, arrefecido a 0°C e tratado sequencialmente com 555 μ l (1,0 equiv.) de trietilamina, 1,21 g (1,05 equiv.) de morfolinocarbonilPhe, 928 mg de hidrato de hidroxibenzotriazol e 780 mg de diciclohexilcarbodiimida. Esta mistura foi agitada num banho de gelo o qual se deixou atingir 20°C durante a noite. A mistura foi filtrada, os sólidos lavados com diclorometano e os filtrados foram lavados com solução de hidróxido de sódio 1N (2x), bicarbonato aquoso, água salgada, secasobre sulfato de magnésio e concentrada originando 1,8 g de um sólido amarelo claro foi digerida com éter e seca para obtermos 1,68 g (67%) da substância em epigrafe como um sólido amarelo.

D. Éster morfolinocarbonilPheHis(imBoc)benzílico

O produto do Exemplo 1C (1,68 g) foi dissolvido em 30 ml de p-dioxano e 15 ml de água e o pH foi subido para 11 por adição de solução de hidróxido de sódio 1N. Juntamos di-t-butildicarbonato (850 μ l) e o pH foi mantido entre 9 e 11 com adição de base. Após 45 minutos juntamos mais 450 μ l de di-t-butildicarbonato e o pH foi mantido próximo de 10,5. Após o total de 1,5 horas, o pH foi ajustado a 5 com ácido clorídrico 1N, a mistura foi parcialmente concentrada para remover o p-dioxano e a solução foi extraída com acetato de etil (4x100 ml). O conjunto das camadas orgânicas foi lavado com solução de hidróxido de sódio 1N, bicarbonato aquoso, seco sobre sulfato de sódio e concentrado ob-



tendo 1,85 g de uma espuma oleosa a qual foi cromatografada sobre 60 g de sílica eluindo com 2%, 4%, 6% e 8% de etanol em diclorometano, originando após concentração das fracções apropriadas 1,05 g da substância em epígrafe como uma espuma amarelo pálida, TLC R_f 0,13 em acetato de etilo.

E. MorfolinocarbonilPheHis(imBoc)

Uma solução de 485 mg do produto do Exemplo 1D em 25 ml de metanol-ácido acético 10:1 foi agitada com 200 mg de Pd/C 10% durante 30 minutos a 50 p.s.i. de pressão de hidrogénio. A mistura foi filtrada através de Celite a qual foi lavada com metanol-ácido acético, os filtrados concentrados, o resíduo co-evaporado com éter e seco originando 361 mg (87%) da substância em epígrafe, R_f 0,25 em clorofórmio-etanol-ácido acético 18:2:1, como uma espuma quase branca.

F. MorfolinocarbonilPheHis(imBoc)-2-i-
-butilhomo-C-Sta lactona

Uma solução de 213 mg de cloreto de 2-isobutilhomo-C-Sta lactona (EPO Publication No. 0212903(A2)) em 1,5 ml de diclorometano foi tratada sequencialmente a 0°C, com 126 µl de trietilamina, 361 mg do produto do Exemplo 1E, 161 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 144 mg de diciclohexilcarbodiimida. A mistura foi agitada durante a noite em cujo tempo a temperatura subiu para 20°C. A mistura foi filtrada, o precipitado lavado com diclorometano, os filtrados concentrados, e o resíduo dissolvido em acetato de etil. Após ser agitada durante 15 minutos, a suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi lavado com solução do hidróxido de sódio 1N (2x), água salgada, seca sobre sulfato de magnésio e concentrada originando 754 mg de uma espuma quase branca a qual foi cromatografada sobre 35 g de sílica empacotada em



0,5% de etanol-diclorometano. A coluna foi eluida com 0,5%, 1%, 2% e 4% de etanol-diclorometano e as fracções apropriadas foram concentradas originando 396 mg (74%) da substância em epígrafe como uma espuma incolor, TLC R_f 0,63 em 18/2/1 de clorofórmio-etanol-ácido acético.

G. MorfolinocarbonilPheHis-2-i-butilhomo-
-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo 1F (361 mg) foi dissolvido em metanol (3 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente e metilamina em excesso foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi cromatografado sobre 20 g de sílica empacotada em 4% de etanol-diclorometano. A coluna foi eluida com 600 ml cada de 4%, 6%, 12% e 15% de etanol-diclorometano. A concentração das fracções apropriadas originou 296 mg (84%) da substância em epígrafe como um pó incolor, HPLC em 50/50 acetonitrilo-tampão 3,23 minutos.

^1H RMN (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ , ppm, parcial) 0,86 e 0,90 (d, total 6H), 0,97-1,80 (m, ca. 15H total), 2,40 (parábola no pico DMSO), 2,51 (d, NCH_3), 2,66-3,0 (m, ca. 4H), 3,0-3,72 (m), 4,15 (m, 1H), 4,37 (m, 1H), 6,80 e 7,50 (s, 1H e a imidazolil CH), 7,60 e 8,47 (m, 1H ea). FAB-MS $[\text{^-}]$ tioglicerol, m/e (intensidade relativas) 7, 233 (39), 250 (14), 261 (16), 283 (17), 405 (10), 642 (16), 696 (100, MH^+), 697 (47), 698 (14).

EXEMPLO 2

MorfolinocarbonilPheNle-2-i-butilhomo-

C-Sta N-metilamida (X = H, n=1, R = n-C₄H₉,

R₁ = NHCH₃ e R₂ = -CH₂CH(CH₃)₂)

A. MorfolinocarbonilPheNle-2-i-butilhomo-
C-Sta lactona

De acordo com o processo geral para preparação e purificação do produto do Exemplo 1F (substituindo H por Nle), 52 mg de cloreto de 2-isobutil-homo-C-Sta lactona foram dissolvidas em 0,5 ml de diclorometano e tratadas com 34 μ l de trietilamina, 67 mg de morfolino-carbonilPheNle, 39 mg de HBT e 35 mg de DCC. Após reacção análoga e isolamento (a cromatografia não era necessária neste caso), 103 mg da substância em epígrafe foi isolada na forma de uma espuma incolor, TLC R_f 0,69 em 18/2/1 HCCl₃-etanol-HOAC.

B. MorfolinocarbonilPheNle-2-i-butilhomo-
C-Sta N-metilamida

De acordo com o processo para preparação e purificação do produto do Exemplo 1G, 102 mg do produto do Exemplo 2A originou 77 mg (72%) da substância em epígrafe como um pó incolor, TLC R_f 0,5 em 18/2/1 HCCl₃-etanol-HOAC, HPLC 2,85 minutos em 70/30 acetonitrilo-tampão.

¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ , ppm, parcial): 0,82-1,0 (m, 9-10H), 1,0-1,9 (m, ca. 24H), 2,46 (m, 1H), 2,57 (d, 3H, NCH₃), 2,86 (dd, 1H), 3,02 (dd, 1H), 3,26 (m, 4H), 3,51 (m, 4H), 3,78 (m, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,59 (d, 1H), 6,70 (d, 1H), 7,14-7,44 (m, ca. 6H), 7,63 (m, 1H), 8,00 (d, 1H), FAB-MS [⁻tioglicerol, m/e (intensidade rel.)] 7, 217(18), 233(61), 234(11), 250(13), 264(10), 268(17), 281(12), 299(21), 381(12), 394(14), 654(39), 655(25), 656(17) 670(12), 672(100,

MH⁺), 673(40), 674(11).

EXEMPLO 3

Éster morfolinocarbonilPheNle-C-Sta metílico
(X=H, n=O, R=CH₃(CH₂)₃- e R₁=OCH₃)

A. Éster N-t-butoxicarbonil-C-Sta metílico

Juntamos t-butoxicarbonil-C-Sta (315 mg, 1 mmole) a 20 ml de éter dietílico contendo aproximadamente 5 mmoles de diazometano e a mistura reagente deixada a agitar durante a noite à temperatura ambiente. A remoção do solvente originou 336 mg do produto desejado como um óleo.

B. Cloreto de ester metílico C-Sta

O produto do Exemplo 3A foi adicionado a 5 ml de dioxano saturado com ácido clorídrico e a reacção agitada à temperatura ambiente durante 90 minutos. A remoção do solvente originou 279 mg do composto desejado na forma de uma espuma.

C. Éster morfolinocarbonilPheNle-C-Sta metílico

Uma mistura de 265 mg do produto do Exemplo 3B, 101,2 mg de N-metilmorfolina, 391,5 mg de morfolinocarbonilPheNle, 135 mg de l-hidroxibenzotriazol e 206 mg de diciclohexilcarbodiimida em 20 ml de cloreto de metileno foi agitada durante a noite à temperatura ambiente. A mistura reagente foi filtrada, lavada com água e uma solução saturada de água salgada e a fase orgânica seca sobre sulfato de sódio. A remoção do solvente in vacuo originou 528 mg do pro-



duto em bruto, o qual foi purificado por cromatografia sobre 53 g de sílica gel usando clorofórmio-metanol (99:1; v:v) como eluente (fracções de 4,5 ml) para as primeiras 160 fracções seguidas por clorofórmio-metanol (97,5:2,5; v:v) para o resto da colecção. As fracções contendo o produto juntaram-se e concentraram-se para obtermos 203 mg do produto puro como um sólido branco.

¹H NMR (DMSO-d₆, 60 MHz, ppm parcial)
1,00 (t, 3H, J=5Hz), 2,2-2,4 (d, 2H, J=5Hz), 3,2-3,4 (m, 4H), 3,45-3,60 (m, 4H), 3,8 (s, 3H), 7,2 (s, 5H).

EXEMPLO 4

MorfolinocarbonilPheNle-C-Sta N-2-metilbut-
ilamida (X=H, n=0, R=CH₃(CH₂)₃- e
R₁ = NHCH₂(CH₃)CH₂CH₃)

A. N-t-butoxicarbonil-C-Sta N-2-metilbutil amida

Uma solução de 80,6 mg de N-t-butoxicarbonil-C-Sta em 50 ml de cloreto de metileno foi tratada com 22,3 mg de 2-metilbutilamino, 34,5 mg de 1-hidroxibenzo-triazol e 52,7 mg de diciclohexilcarbodiimida e a mistura reagente foi agitada a 0°C durante 6 horas, e a seguir deixada a aquecer à temperatura ambiente durante a noite. A reacção foi filtrada e o precipitado lavado com cloreto de metileno e combinado com o filtrado original. O cloreto de metileno foi removido in vacuo e o resíduo tratado com acetato de etil. A suspensão foi filtrada e o filtrado concentrado numa espuma, 116 mg.

B. Cloreto de C-Sta N-2-metilbutilamida

O produto do Exemplo 4A, 116 mg, foi adicionado a 5 ml de dioxano saturado com ácido clorídrico e a solução deixada a agitar à temperatura ambiente durante 90 minutos. A solução foi concentrada in vacuo, 87 mg.

C. MorfolinocarbonilPheNle-C-Sta N-2-
-2-metilbutil amida

Seguindo o processo geral do Exemplo 1F, 87 mg do produto do Exemplo 4B, 25,9 mg de N-metilmorfolina, 100 mg de morfolinocarbonilPheNle, 34,5 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 52,7 mg de diciclohexilcarbodiimida em 20 ml de cloreto de metileno originaram 212 mg de produto em bruto.

O produto foi purificado por cromatografia sobre 21 g de sílica gel usando clorofórmio-metanol (99:1; v:v) como o eluente para as primeiras 80 frações (4 ml) seguido por clorofórmio-metanol (97,5:2,5; v:v). As frações contendo o produto juntaram-se e concentraram-se sob vácuo para obtermos 80 mg de produto puro como um sólido branco.

¹H NMR (DMSO-d₆, 60 MHz, ppm parcial)
2,20 (d, 2H, J=5Hz), 3,2-3,4 (m, 4H), 3,6-3,8 (m, 4H), 7,25 (s, 5H).



EXEMPLO 5

Éster morfolinocarbonilPheNle-C-StaPro metílico
(X=H, n=0, R=CH₃(CH₂)₃- e R₁=2-metoxicarbonil-
pirrolidina-1-il

A. Éster N-t-butoxicarbonil-C-StaPro metílico

Usando o processo geral do Exemplo 1F, 41,3 mg de cloreto de éster metílico prolina, 25,3 mg de N-metilmorfolina, 78,8 mg de N-t-butoxicarbonil-C-Sta, 33,8 mg de 1-hidroxibenzotriazol, 51,5 mg de diciclohexilcarbodiimida em 20 ml de cloreto de metileno originou 124 mg de produto.

B. Cloreto de éster metílico C-StraPro

Seguindo o processo do Exemplo 1B, o produto do Exemplo 5A originou, após um tempo de reação de 90 minutos, 102 mg do produto em epígrafe.

C. éster morfolinocarbonilPheNle-C-StaPro metílico

Empregando o produto do Exemplo 5B, 25,3 mg de N-metilmorfolina, 97,8 mg de morfolinocarbonilPheNle, 33,8 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 51,5 mg de diciclohexilcarbodiimida em 20 ml de cloreto de metileno, e seguindo o processo do Exemplo 1F, obtivemos 157 mg do produto.

O produto foi cromatografado sobre 16 g de sílica gel usando um eluente clorofórmio-metanol (99:1; v:v) para as primeiras 80 frações (4 ml) seguido por clorofórmio-metanol (97,5:2,5; v:v). As frações contendo o produto foram juntas e concentradas à secura, 82 mg.

¹H NMR (DMSO-d₆, 60 MHz, ppm parcial) 1,0 (t, 3H, J=5Hz), 2,2 (d, 2H, J=5Hz), 3,2-3,4 (m, 4H), 3,5-3,7 (m, 4H), 3,85 (1,3 H), 7,2 (1,5H).

EXEMPLO 6

Éster morfolinocarbonilPheHis-C-Sta metílico
(X=H, $n=0$, R=imidazol-4-ilmetil e $R_1=OCH_3$)

A. Éster di-t-butoxicarbonilHis-C-Sta metílico

Usando o processo do Exemplo 1F, 82,6 mg do cloreto de éster metílico C-Sta, 32,1 mg de N-metilmorfolina, 112,7 mg de di-t-butoxicarbonil L-histidina, 42,9 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 65,4 mg de diciclohexilcarbodiimida em 20 ml de metileno originaram 221 mg do produto em bruto.

B. Cloreto de éster metílico his-C-Sta

Seguindo o processo geral do Exemplo 1B, o produto do Exemplo 6A em 10 ml de dioxano saturado com ácido clorídrico após 2 horas originou 146 g do produto em causa.

C. Éster morfolinocarbonilPheHis-Sta metílico

De novo, seguindo o processo de ligação do Exemplo 1F, 146 mg do produto do Exemplo 6B, 64,2 mg de N-metilmorfolina, 88,3 mg de morfolinocarbonilPhe, 42,9 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 65,4 mg de diciclohexilcarbodiimida em 20 ml de cloreto de metileno originou por processamento 206 mg de produto.

O produto foi purificado por cromatografia sobre 21 g de sílica gel usando cloroórmio-metanol (99:1, v:v) como um eluente para as primeiras 160 frações (4 ml) seguido por clorofórmio-metanol (95:5; v:v) a seguir. As frações contendo o produto juntaram-se e concentraram-se in vacuo, 38,6 mg.



¹H NMR (DMSO-d₆, 60 MHz, ppm parcial)
1,0 (t, 3H, J=5Hz), 2,25 (d, 2H, J=5Hz), 3,2-3,4 (m, 2H),
3,5-3,7 (m, 2H), 3,8 (s, 3H), 6,8. (s, 1H), 7,2 (s, 5H), 7,5
(s, 1H).

EXEMPLO 7

MorfolinocarbonilPheNle-C-Sta amida
(X=H, n=0, R=CH₃(CH₂)₃- e R₁=NH₂)

Uma solução de 90 mg do produto do Exem-
plo 3 em 10 ml de metanol como saturado com amónia e deixado
a agitar à temperatura ambiente durante vários dias. A so-
lução foi resaturada e deixada a agitar durante mais alguns
dias. O excesso de amónia e metanol foram removidos in vacuo
e o resíduo digerido com éter e filtrado, 65 mg.

¹H NMR (DMSO-d₆, 60 MHz, ppm parcial)
1,0 (t, 3H, J=5Hz), 2,2 (d, 2H, J=5Hz), 3,25-3,45 (m, 4H),
3,5-3,7 (m, 4H), 7,2 (s, 5H).

EXEMPLO 8

MorfolinocarbonilPhe-Nle-C-Sta N-metil amida
(X=H, n=0, R=CH₃(CH₂)₃- e R₁=NHCH₃)

O processo do Exemplo 7 foi repetido usan-
do 40 mg do produto do Exemplo 3 e 10 ml de metanol saturado
com metilamina para obtermos, após um tempo de reacção de vá-
rios dias à temperatura ambiente, 36 mg do produto desejado.

¹H NMR (DMSO-d₆, 60 MHz, ppm parcial) 1,05
(t, 3H, J=5Hz), 2,3 (d, 2H, J=5Hz), 2,63 (s, 3H), 3,2-3,4 (m,
4H), 3,6-3,8 (m, 4H), 7,2 (s, 5H).



EXEMPLO 9

MorfolinocarbonilPheHis-C-Sta N-metil amida
(X=H, n=0, R= imidazol-4-ilmetil e $R_1 = \text{NHCH}_3$)

Seguimos o processo do Exemplo 7 partindo de 33 mg do produto do Exemplo 8 e 5 ml de metanol saturado com metilamina para obtermos, após um período de reação de vários dias à temperatura ambiente, 20 mg do produto.

^1H NMR (DMSO- d_6 , 60 MHz, ppm parcial)
1,0 (t, 3H, $J=5\text{Hz}$), 2,2 (d, 2H, $J=5\text{Hz}$), 2,65 (s, 3H), 3,2-3,4 (m, 4H), 3,5-3,7 (m, 4H), 6,8 (s, 1H), 7,2 (s, 5H), 7,6 (s, 1H).

EXEMPLO 10

MorfolinocarbonilPheNle-2-(2'-cloro-2'-propenil)
homo-C-Sta N-metilamida (X=H, R= $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$ -,
 $R_1 = \text{NHCH}_3$ e $R_2 = -\text{CH}_2\text{CH}(\text{Cl})=\text{CH}_2$)

A. morfolinocarbonilPheNle-2-(2'-cloro-2'-propenil)-
homo-C-Sta lactona

Repetiu-se o processo do Exemplo 1F usando 57 mg de 2-(2'-cloro-2'-propenil)homo-C-Sta lactona em 15 ml de diclorometano, 19,5 μl de N-metilmorfolina, 69,8 ml de morfolinocarbonilPheNle, 23,9 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 36,5 mg de ciclohexilcarbodiimida para obtermos 88 mg de uma espuma a qual foi cromatografada sobre 10 g de sílica cheia em clorofórmio. A coluna foi eluída com clorofórmio e 99% de clorofórmio-metanol (v:v), e juntamos as frações apropriadas e concentramos para obtermos 43 mg de produto.

B. morfolinocarbonilPheNle-2-(2'-cloro-2'-propenil)homo-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo 10A (43 mg) foi dissolvido em metanol (5 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente e excesso de metilamina foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi digerido com éter para obtermos 33 mg da substância em epígrafe como um pó incolor.

¹H-NMR (DMSO-d₆), 300 MHz, δ , ppm, parcial): 2,5 (d, NCH₃), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H), 5,15 (m, 2H).

EXEMPLO 11

MorfolinocarbonilPheNle-2-(4'-azido-2'-butenil)-homo-C-Sta N-metilamida (X=H, R=CH₃(CH₂)₃-)
R₁=CH₃ e R₂=CH₂CH=CHCH₂N₃)

A. morfolinocarbonilPheNle-2-(4'-azido-2'-butenil)-homo-C-Sta lactona

Uma solução de 97 mg de cloreto de 2-(4'-azido-2'-butenil)homo-C-Sta lactona em 20 ml de diclorometano foi tratada sequencialmente a 0°C com 28 μ l de N-metilmorfolina, 110,6 mg de morfolinocarbonilPheNle, 38,2 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 58,3 mg de diciclohexilcarbodiimida. A mistura foi agitada durante a noite em cujo tempo a temperatura subiu para 20°C. A mistura foi filtrada, o precipitado foi lavado com diclorometano, os filtrados concentrados e o resíduo dissolvido em acetato de etil. Após ter sido agitado durante 15 minutos, a suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi lavado com solução de hidróxido de sódio 1N (2x), água salgada, seca sobre sulfato de magnésio e concentrada originando 221 mg de uma espuma quase branca a qual foi

cromatografada sobre 22 g de sílica com enchimento em clorofórmio. A coluna foi eluída com 99% de clorofórmio — metanol e as frações apropriadas foram concentradas originando 121 mg da substância em epígrafe como uma espuma incolor.

B. morfolinocarbonilPheNle-2-(4'-azido-2'-butenil)-
homo-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo 11A (121 mg) foi dissolvido em metanol (10 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente em excesso de metilamina foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi digerido com éter para obtermos 88 mg da substância em epígrafe como um pó incolor.

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ, ppm, parcial): 2,5 (d, NCH₃), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H).

EXEMPLO 12

MorfolinocarbonilPheNle-2-(4'-amino-1'-butil)-
homo-C-Sta N-metilamida (X=H, R=CH₃(CH₂)₃,
R₁=NHCH₃ e R₂=(CH₂)₄NH₂)

O produto do Exemplo 11B (58 mg) foi hidrogenado a 50 psi em metanol na presença de 20 mg de 5% de hidróxido de paládio sobre carbono durante 19 horas a 25°C. A reação após filtração foi evaporada à secura para obtermos (após digestão por éter) 44 mg do composto em epígrafe. ¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ ppm, parcial): 2,5 (d, NCH₃), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H).

EXEMPLO 13

MorfolinocarbonilPheNle-2-(2'-bromo-2'-propenil)-
homo-C-Sta N-metilamida (X=H, R=CH₃(CH₂)₃-,
R₁=NHCH₃ e R₂=CH₂CH(Br)=CH₂)

A. morfolinocarbonilPheNle-2-(2'-bromo-2'-prope-
nil)homo-C-Sta lactona

Uma solução de 78 mg de cloreto de 2-(2'-bromo-2'-propenil)homo-C-Sta lactona em 20 ml de diclorometano foi tratada sequencialmente a 0°C com 22 µl de N-metilmorfolina, 78,2 mg de morfolinocarbonilPheNle, 27 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 41,2 mg de diciclohexilcarbodiimida. A mistura foi agitada durante a noite, em cujo tempo a temperatura subiu para 20°C. A mistura foi filtrada, o precipitado lavado com diclorometano, o filtrado concentrado, e o resíduo dissolvido em acetato de etil. Após ter sido agitada durante 15 minutos, a suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi lavado com solução de hidróxido de sódio 1N (2x), água salgada, seco sobre sulfato de magnésio e concentrado obtendo 190 mg de uma espuma quase branca a qual foi cromatografada sobre 10 g de sílica com enchimento em clorofórmio. A coluna foi eluída e as frações apropriadas foram concentradas originando 78 mg da substância em epígrafe como uma espuma incolor, TLC R_f 0,85 em 9/1 clorofórmio-metanol.

B. morfolinocarbonilPheNle-2-(2'-bromo-2'-prope-
nil)homo-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo 13A (78 ml) foi dissolvido em metanol (10 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente e excesso de metilamina foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi digerido com éter para obtermos 55 mg de substância em epígrafe como um pó incolor.



¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ , ppm, parcial): 2,5 (d, NCH₃), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H), 5,5 (m, 2H).

EXEMPLO 14

MorfolinocarbonilPheNle-2-(3'-cloro-2'-propenil)-
homo-C-Sta N-metilamida (X=H, R=CH₃(CH₂)₃, R₁=NHCH₃
e R₂=-CH₂CH=CHCl)

A. morfolinocarbonilPheNle-2-(3'-cloro-2'-propenil)homo-C-Sta lactona

Uma solução de 136 mg de cloreto de 2-(3'-cloro-2'-propenil)homo-C-Sta lactona em 15 ml de diclorometano foi tratada sequencialmente a 0°C com 21,4 μ l de N-metilmorfolina, 76 mg de morfolinocarbonilPheNle, 26,2 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 40 mg de diciclohexilcarbodiimida. A mistura foi agitada durante a noite em cujo tempo a temperatura subiu para 20°C. A mistura foi filtrada, o precipitado lavado com diclorometano, os filtrados concentrados e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. Após ter sido agitado durante 15 minutos a suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi lavado com solução de hidróxido de sódio 1N (2x), água salgada, seca sobre sulfato de magnésio e concentrada originando 167 mg de uma espuma quase branca a qual foi cromatografada sobre 17 g de sílica com enchimento em clorofórmio. A coluna foi eluída com clorofórmio e 99% de clorofórmio-metanol e as frações apropriadas foram concentradas originando 103 mg da substância em epígrafe como uma espuma incolor, TLC R_f 0,9 em 9/1 clorofórmio-metanol.

B. morfolinocarbonilPheNle-2-(3'-cloro-2'-propenil)-
homo-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo 14A (103 mg) foi dissolvido em metanol (10 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a



solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente e excesso de metilamina foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi digerido com éter para obtermos 74 mg da substância em epígrafe como um pó incolor.

¹H-NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ, ppm, parcial): 2,5 (d, NCH₃), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H), 5,6-6,4- (m, 2H).

EXEMPLO 15

MorfolinocarbonilPheNle-2-(3',3'-dimetil-2'-
-propenil)homo-C-Sta N-metilamida (X=H,
R=CH₃(CH₂)₃-, R₁=NHCH₃ e R₂=-CH₂CH=C(CH₃)₂)

A. morfolinocarbonilPheNle-2-(3',3'-dimetil-2'-
-propenil)homo-C-Sta lactona

Uma solução de 132 mg de cloreto de 2-(3',3'-dimetil-2'-propenil)homo-C-Sta lactona em 15 ml de diclorometano foi tratada sequencialmente a 0°C com 21,7 µl de N-metilmorfolina, 77,3 mg de morfolinocarbonilPheNle, 26,7 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 40,7 mg de diciclohexilcarbodiimida. A mistura foi agitada durante a noite em cujo tempo a temperatura subiu para 20°C. A mistura foi filtrada, o precipitado lavado com diclorometano, os filtrados concentrados, e o resíduo dissolvido em acetato de etil. Após ter sido agitada durante 15 minutos a suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi lavado com solução de hidróxido de sódio 1N (2x), água salgada, seca sobre sulfato de magnésio e concentrada originando 150 mg de uma espuma quase branca a qual foi cromatografada sobre 15 g de sílica com enchimento em clorofórmio. A coluna foi eluída com clorofórmio e 99% de clorofórmio-metanol e as frações apropriadas foram concentradas originando 89 mg da substância em epígrafe como uma espuma incolor, TLC R_f 0,6 em 9/1 clorofórmio-metanol.



B. morfolinocarbonilPhenle-2-(3',3'-dimetil-2'-propenil)homo-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo, 15A (89 mg) foi dissolvido em metanol (10 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente e excesso de metilamina foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi digerido com éter para obtermos 65 mg da substância em epígrafe como um pó incolor, ¹H NMR (DMSO-d₆, 300 MHz, δ , ppm, parcial): 1,8 (br. s, 6H), 2,5 (d, NCH₃), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H).

EXEMPLO 16

MorfolinocarbonilPhenle-2-(2'-butenil)homo-C-Sta N-metilamida (X=H, R=CH₃(CH₂)₃, R=NHCH₃ e R₂=CH₂CH=CHCH₃)

A. morfolinocarbonilPhenle-2-(2'-butenil)homo-C-Sta lactona

Uma solução de 247 mg de cloreto de 2-(2'-butenil)homo-C-Sta lactona em 15 ml de diclorometano foi tratada sequencialmente a 0°C com 26,3 µl de N-metilmorfolina, 93,4 mg de morfolinocarbonilPhenle, 32,3 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 49,2 mg de diclorohexilcarbodiimida. A mistura foi agitada durante a noite em cujo tempo a temperatura subiu para 20°C. A mistura foi filtrada, o precipitado lavado com diclorometano, os filtrados concentrados, e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. Após ter sido agitada durante 15 minutos, a suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi lavado com solução de hidróxido de sódio 1N (2x), água salgada, seca sobre sulfato de magnésio e concentrada originando 168 mg de uma espuma quase branca a qual foi cromatografada sobre 10 g de sílica com enchimento em cloro-

fórmio. A coluna foi eluida com 99% de clorofórmio-metanol e as frações apropriadas foram concentradas originando 96 mg da substância em epígrafe como uma espuma incolor, TLC R_f 0,7 em 9/1 clorofórmio-metanol.

B. morfolinocarbonilPheNle-2-(2'-Butenil)homo-
-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo 16A (96 mg) foi dissolvido em metanol (10 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente e excesso de metilamina foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi digerido com éter para originar 66 mg da substância em epígrafe como um pó incolor, $^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ , ppm, parcial): 1,8 (br. s, 3H); 2,5 (d, NCH₃), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H).

EXEMPLO 17

MorfolinocarbonilPheNle-2-(propargil)homo-
-C-Sta N-metilamida (X=H, R=CH₃(CH₂)₃-,
R₁=NHCH₃ e R₂=CH₂C $\equiv$ CH)

A. morfolinocarbonilPheNle-2-(3'-propargil)homo-
-C-Sta lactona

Uma solução de 193 mg de cloreto de 2-(3'-propargil)homo-C-Sta lactona em 15 ml de diclorometano foi tratada sequencialmente a 0°C com 22,4 μl de N-metilmorfolina, 83,2 mg de morfolinocarbonilPheNle, 28,7 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 43,8 mg de diciclohexilcarbodiimida. A mistura foi agitada durante a noite em cujo tempo a temperatura subiu para 20°C. A mistura foi filtrada, o precipitado lavado com diclorometano, os filtrados concentrados, e o resíduo dissolvido em acetato de etilo. Após ter sido agita-

da durante 15 minutos, a suspensão resultante foi filtrada, e o filtrado foi lavado com solução de hidróxido de sódio 1N (2x), água salgada, seca sobre espuma de magnésio a qual foi cromatografada sobre 10 g de sílica com enchimento de clorofórmio. A coluna foi eluída com 99% de clorofórmio-metanol e as frações apropriadas foram concentradas originando 98 mg da substância em epígrafe como uma espuma incolor, TLC R_f 0,6 in 9/1 clorofórmio-metanol.

B. morfolinocarbonilPheNle-2-(3'-propargil)homo-
-C-Sta N-metilamida

O produto do Exemplo 17A (98 mg) foi dissolvido em metanol (10 ml) e a solução resultante foi saturada a 0°C com metilamina anidra. O frasco foi tapado e a solução foi deixada em repouso a 25°C durante 70 minutos. O solvente e excesso de metilamina foram removidos a pressão reduzida e o pó resultante foi digerido com éter para obtermos 90 mg da substância em epígrafe como um pó incolor.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6 , 300 MHz, δ , ppm, parcial): 2,3 (m, 2H), 2,5 (d, NCH_3), 3,4 (m, 4H), 3,6 (m, 4H).

EXEMPLO 18

Éster morfolinocarbonilPhe S-MeCis-C-Sta Metílico
(X=H, n=0, R= CH_2SCH_3 e $\text{R}_1=\text{OCH}_3$)

Uma mistura de 135 mg do produto do Exemplo 3B, 51 mg de N-metilmorfolina, 209 mg de morfolinocarbonilPheNle S-MeCis, 69 mg de 1-hidroxibenzotriazol e 105 mg de diciclohexilcarbodiimida em 10 ml de cloreto de metileno foi agitada durante a noite à temperatura ambiente. A mistura reagente foi filtrada, lavada com água e uma solução saturada de água salgada e a fase orgânica seca sobre sulfato de sódio. A remoção do solvente in vacuo originou 212 mg do produto em bruto, o qual foi purificado por cromatografia

sobre 22 g de silica gel usando clorofórmio-metanol (99:1; v:v) como eluente. As frações contendo o produto juntaram-se, concentraram-se e trituraram-se para obtermos 78 mg do produto puro como um sólido branco.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6 , 60 MHz, ppm parcial) 2,05 (s, 3H, $J=5\text{Hz}$), 2,2-2,4 (d, 2H, $J=5\text{Hz}$), 3,3-3,4 (m, 4H), 3,50-3,60 (m, 4H), 3,85 (s, 3H), 7,2 (s, 5H).

PREPARAÇÃO 1

MorfolinocarbonilPheNle

A. Éster norleucina benzílico

De acordo com o processo geral apresentado em J. Med. Chem. 1986, vol. 30, p. 3575, 15,0 g de norleucina foram misturadas com 200 ml de álcool benzílico e arrefecidas a 0°C . Juntamos gota a gota cloreto de tionilo (25 ml) durante 15 minutos e a mistura foi lentamente aquecida a 90°C com uma libertação violenta de SO_2 que ocorre a cerca de 50°C . Após 2 horas a 90°C a mistura foi arrefecida a 0°C e juntamos mais 25 ml de cloreto de tionilo. A mistura foi a seguir aquecida novamente a 90°C durante 2 horas, arrefecida, diluída com 1,6 litros de éter e armazenada durante a noite a 0°C . Os cristais que se formaram foram filtrados, lavados com éter e secos para obtermos 23,1 g de um sólido húmido o qual foi recristalizado a partir de etanol-éter 1:10, usando 23 ml de etanol. O filtrado e o sólido seco pesaram 17,1 g de TLC R_f 0,25 no Sistema C (o prato manchado foi exposto a vapor de amónio e seco antes da eluição).

B. Éster benzílico de ácido (S)-2-isocianato-3-fenilpropionico

De acordo com o processo de Lombardino et al. (J. Med. Chem. 1964, 7, 97) 18,0 g de cloreto de éster

L-fenilalanina benzílico em 150 ml de tolueno foram agitadas a refluxo sob uma atmosfera de fosgênio durante 1,5 h, arrefecidos e concentrados para obtermos um sólido o qual foi recristalizado a partir de 120 ml de hexano para obtermos 16,1 g de agulhas incolores.

Anal. Calc. para $C_{17}H_{15}NO_3$: C, 72,59; H, 5,37; N, 4,98.

Observada: C, 72,32; H, 5,35; N, 4,92. MP 68-72°C

$[\alpha]_D^{23}$ - 80,4° (C=1,02, $CHCl_3$). IR ($CHCl_3$) 2250, 1750 cm^{-1} .

C. Éster morfolinocarbonilPhe benzílico

O produto da Preparação 1B foi dissolvido em 5 ml de diclorometano, tratada a 25°C com 930 μ l de morfolina e após 30 minutos a mistura foi concentrada num sólido ceroso o qual foi recristalizado a partir de hexano-acetato de etil quente 4:1, originando 1,92 g da substância em epígrafe, mp 87-89°C. MS (ionização química, isobutano) 369 (MH^+ , pico base).

D. MorfolinocarbonilPhe

O produto da Preparação 1C (1,85 g) foi dissolvido em 30 ml de metanol absoluto e 5 ml de ácido acético e agitamos com 0,5 g de 10% Pd/c durante 1 hora sob uma atmosfera de hidrogênio de 53 psi. A suspensão foi filtrada, concentrada, co-evaporada três vezes com adição de tolueno e seca para obtermos 1,43 g de uma espuma incolor.

E. Éster morfolinocarbonilPheNle benzílico

Seguindo o processo para a preparação e purificação do produto do Exemplo 1, 2,12 g do produto da Preparação 1A e 2,63 g do produto da Preparação 1C originaram 3,30 g da substância em epígrafe como uma espuma incolor, TLC R_f 0,5 em acetato de etilo sobre sílica, HPLC tempo de retenção 3,27 minutos 97% da absorção total para 25 minutos em 70/30 MeCN-pH 2,1 fosfato 0,1M.

F. MorfolinocarbonilPheNle

O produto da Preparação 1D (3,3 g) foi agitado em 35 ml de metanol e 7 ml de ácido acético com 1 g de Pd/c a 10% durante 45 minutos, filtrado através de Celite, concentrado, co-evaporado diversas vezes com tolueno e éter e seco para obtermos 2,9 g de um sólido incolor, TLC R_f 0,2 no Sistema C.

PREPARAÇÃO 2

2R, 4S, 5S-6-Ciclohexil-5-(t-butoxicarbonilamino)-2-(2'-cloro-2'-propenil)gama-hexanolactona

A uma solução de tetrahidrofurano contendo 37,5 mmol de dietilamida de lítio a -70°C (preparado a partir de 23,4 ml de hexano butilitio 1,6 M e 4,26 g de dietilamina em 50 ml de tetrahidrofurano seco) juntamos gota a gota uma solução de 4,67 g (15 mmol) de 4S,5S-6-ciclohexil-5-(t-butoxicarbonilamino)-gama hexanolactona em 25 ml de tetrahidrofurano. Após 30 minutos a -78°C juntamos gota a gota a -70°C numa solução de 3,64 g (16 mmol) de 2-cloro-3-iodopropeno em 25 ml de tetrahidrofurano. Após 2 horas a mistura reagente foi arrefecida com 10 ml de uma solução saturada de cloreto de amônio adicionada gota a gota a -78°C , e a mistura resultante deixada aquecer à temperatura ambiente.

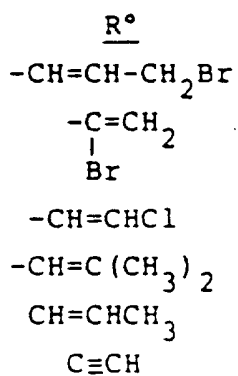
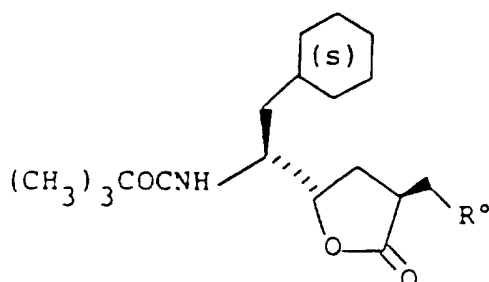
O solvente foi removido in vacuo e o resíduo extraído com éter dietílico. A solução etérea foi lavada com solução de ácido cítrico a 10%, uma solução saturada de bicarbonato de sódio e uma solução salina. A solução etérea foi a seguir seca sobre sulfato de magnésio e concentrada para obtermos 6,83 g de um óleo, o qual foi cromatografado sobre sílica gel usando acetato de etil-hexano como eluente. As fracções contendo o produto juntaram-se e concentra-

ram-se para obtermos 2,38 g do produto desejado.

O espectro NMR (CDCl_3) apresentou absorção a 1,4 (9H, s) ppm.

PREPARAÇÃO 3

Empregando o processo da Preparação A, e usando os reagentes de partida apropriados, sintetizamos os intermediários seguintes:



PREPARAÇÃO 4

2R,4S,5S-6-ciclohexil-5-(t- butoxycarbonilamino)-
-2-(4-azido-2-butenil)-gama-hexanolactona

Uma solução de 710 mg (1,6 mmol) de 2R,4S,5S-6-ciclohexil-5-(t-butoxicarbonilamino)-2-(4'-bromo-2'-butenil)gama-hexanolactona e 986 mg (15,2 mmol) de azido de sódio em 75 ml de dimetilsulfóxido-água (2:1, v:v) foi deixada a agitar durante a noite à temperatura ambiente. A reação foi deitada em 500 ml de água e o produto extraído com acetato de etilo. Juntamos os extractos e lavamos sucessivamente com água e uma solução salina, e foram secos sobre sulfato de magnésio. O solvente foi removido in vacuo para obtermos 73 mg do produto desejado.

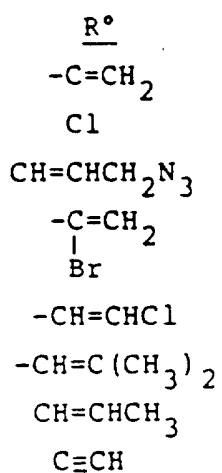
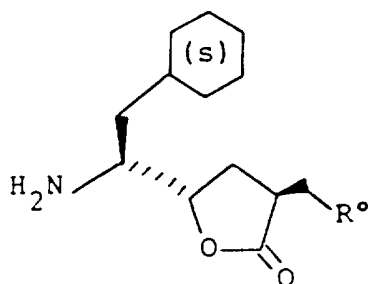
PREPARAÇÃO 5

Cloreto de 2R,4S,5S-6-ciclohexil-5-amino-2-
-(2'-cloro-2'-propenil)-gama-hexanolactona

Uma solução de 385 mg (1 mmol) de 2R,4S,5S-6-ciclohexil-5-(t-butoxicarbonilamino)-2-(2'-cloro-2'-propenil)-gama-hexanolactona em 10 ml de ácido clorídrico 4,7 N em dioxano foi deixada a agitar durante 2 horas à temperatura ambiente. O solvente foi removido in vacuo para obtermos 331 mg do cloreto de amina desejada.

PREPARAÇÃO 6

Usando o processo da Preparação 5, e empregando os intermediários das Preparações 2, 3 e 4, preparamos os intermediários seguintes:



PREPARAÇÃO 7

MorfolinocarbonilPhe 5-MeCis

A. Éster morfolinocarbonilPhe 5-MeCis metílico

Morfolinocarbonil 5-MeCis (0,96 g) e 5-MeCisOMe-HCl (0,55 g) foram acoplados usando o reagente DEC solúvel em água, juntamente com TEA e HBT. A mistura reagente foi diluída com 100 ml de EtOAc, lavada com 2×35 ml de HCl 0,1N e 2×35 ml de NaOH 0,1N. A fase orgânica foi seca sobre MgSO_4 , filtrada e concentrada in vacuo. O produto em bruto (1,15 g) era suficientemente puro para ser transportado. NMR (300 MHz, CDCl_3) delta 2,00 (s, 3H), 3,72 (s, 3H), 4,58 (m, 1H), 4,65 (m, 1H).

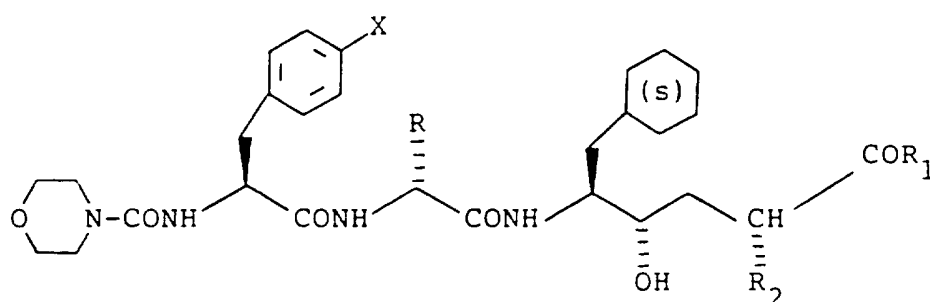
B. MorfolinocarbonilPhe 5-MeCis

Éster morfolinocarbonilPhe 5-MeCis metílico (1,15 g) foi saponificado com 300 mg de K_2CO_3 em 30 ml de MeOH, sendo a reação agitada a 0° durante 15 minutos e a seguir a RT. O produto em bruto (1,0 g) foi usado sem mais purificação. NMR (300 MHz, CDCl_3), 2,03 delta (s, 3H), 4,63 (m, 1H), 4,77 (m, 1H).

[Handwritten signature]

REIVINDICAÇÕES

1a. - Processo para a preparação de um composto de fórmula

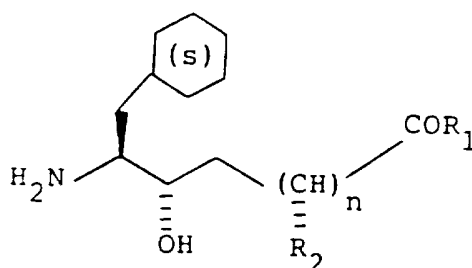
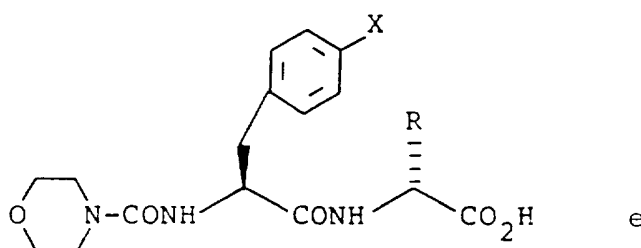


em que X é hidrogénio, metoxi ou hidroxí; R é alquilo tendo um a seis átomos de carbono, imidazol-4-ilmetilo ou metiltiométilo; n é o inteiro 0 ou 1; R₁ é amino, alquilamino tendo de um a cinco átomos de carbono, alcoxi tendo de um a três átomos de carbono ou 2-alcoxycarbonilpirrolidin-1-ilo tendo o referido alcoxi de um a três átomos de carbono; R₂ é alquilo tendo três a quatro átomos de carbono, -CH₂CH(Cl)=CH₂, -CH₂CH=CH-CH₂N₃, -(CH₂)₄NH₂, -CH₂CH(Br)=CH₂, -CH₂CH=CHCl, -CH₂CH=C(CH₃)₂, -CH₂CH=CHCH₃, ou -CH₂C≡CH, caracterizado pelo facto de se formar uma ligação amida, C(O)N, por acoplamento com desidratação em que os grupos funcionais não envolvidos na reacção podem ser bloqueados seguido pelos passos opcionais de 1) tratamento de um composto onde R₁ é alcoxi tendo uma três átomos de carbonocom amoníaco ou uma alquilamina tendo um a cinco átomos de carbono de modo a obter-se o produto onde R₁ é amino ou alquilamino tendo um a cinco átomos de carbono, 2) redução de um composto onde R₂ é -CH₂-CH=CH-CH₂N₃ para obtermos o produto onde R₂ é -(CH₂)₄NH₂, 3) remoção selectiva dos grupos bloqueadores e, se for desejado, a produção de um sal farmacêuticamente aceitável do

[Handwritten signature]

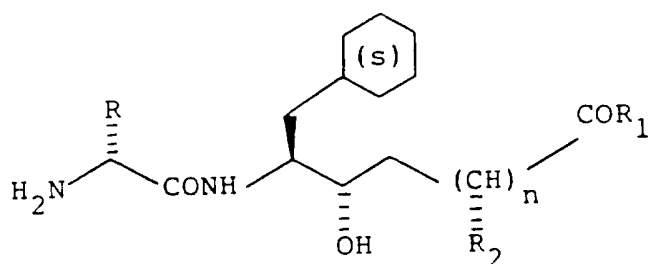
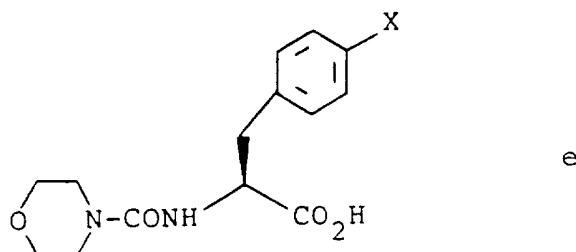
produto.

2a. - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de a ligação amida ser formada entre os fragmentos



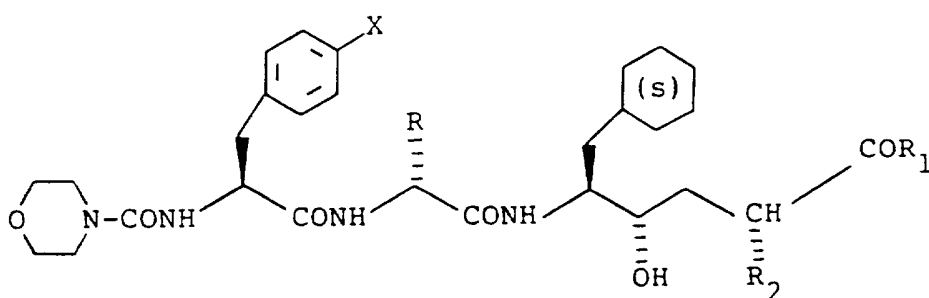
3a. - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de a ligação amida ser formada entre os fragmentos

~~Handwritten signature~~



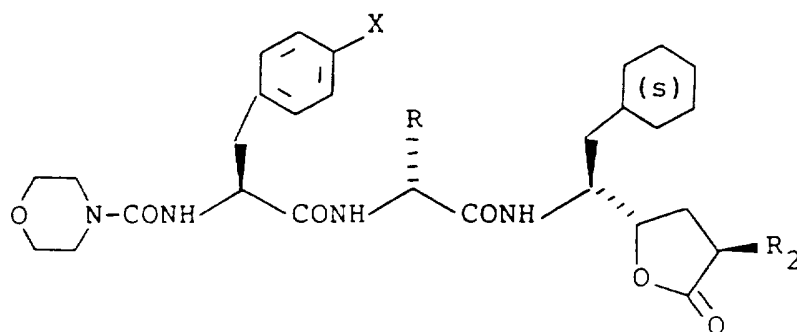
4a. - Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto do reagente de acoplamento ser 1-hidroxibenzotriazole e diciclo-hexilcarbodi-imida.

5a. - Processo para a preparação de um composto de fórmula



~~_____~~

em que X é hidrogénio, metoxi ou hidroxí; R é alquilo tendo um a seis átomos de carbono, imidazol-4-ilmetilo ou metil-tiometilo; R_1 é amino, alquilamino tendo de um a cinco átomos de carbono, alcoxi tendo de um a três átomos de carbono ou 2-alcoxicarbonilpirrolidin-1-ilo tendo o referido alcoxi de um a três átomos de carbono; e R_2 é alquilo tendo três a quatro átomos de carbono, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{Cl})=\text{CH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}_3$, $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{Br})=\text{CH}_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCl}$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_3$ ou $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$, caracterizado por se fazer reagir um composto de fórmula



com amoníaco, com um alcanol tendo um a três átomos de carbono, com uma alquilamina tendo um a cinco átomos de carbono ou com 2-alcoxicarbonilpirrolidina, tendo o referido alcoxi uma três átomos de carbono em que os grupos funcionais não envolvidos na reacção podem ser bloqueados, seguido pelos passos opcionais de 1) redução de um composto onde R_2 é $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2\text{N}_3$ de modo a obter-se o produto onde R_2 é $-(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$, 2) remoção selectiva dos grupos de bloqueamento

