



(11) Número de Publicação: **PT 1440977 E**

(51) Classificação Internacional:  
**C07K 5/00** (2006.01) **C07K 5/09** (2006.01)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2004.01.22**

(30) Prioridade(s): **2003.01.24 FR 0300808**

(43) Data de publicação do pedido: **2004.07.28**

(45) Data e BPI da concessão: **2006.07.26**  
**012/2006**

(73) Titular(es):

**L'OREAL**

**14, RUE ROYALE 75008 PARIS**

**FR**

(72) Inventor(es):

**SYLVIE GENARD**

**FR**

(74) Mandatário:

**MANUEL GOMES MONIZ PEREIRA**

**RUA ARCO DA CONCEIÇÃO, N.º 3, 1º ANDAR 1100-028**  
**LISBOA**

**PT**

(54) Epígrafe: **PROCESSO DE SÍNTESE MELHORADO DE DERIVADOS DIAMIDAS DO TRIPÉPTIDO KPV**

(57) Resumo:

## DESCRIÇÃO

### **PROCESSO DE SÍNTESE MELHORADO DE DERIVADOS DIAMIDAS DO TRIPÉPTIDO KPV**

A presente invenção refere-se a um processo melhorado de síntese de derivados diamidas do tripéptido Lisina-Prolina-Valina (KPV).

#### **TÉCNICA ANTERIOR**

Em síntese peptídica distinguem-se duas grandes vias de síntese que são a síntese em fase sólida e a síntese em solução.

A síntese em fase sólida apresenta a vantagem de uma grande flexibilidade e de uma automatização já existente. Os produtos são em geral sintetizados em escalas laboratoriais, indo na maioria dos casos de algumas miligramas a uma centena de miligramas. O seu princípio baseia-se na química sobre suporte com as suas vantagens conhecidas, em particular em termos de purificação, o que permite a utilização de excesso de reagentes para favorecer o rendimento. Esta via é em geral utilizada para a síntese de um grande número de compostos com um fim de triagem da sua actividade.

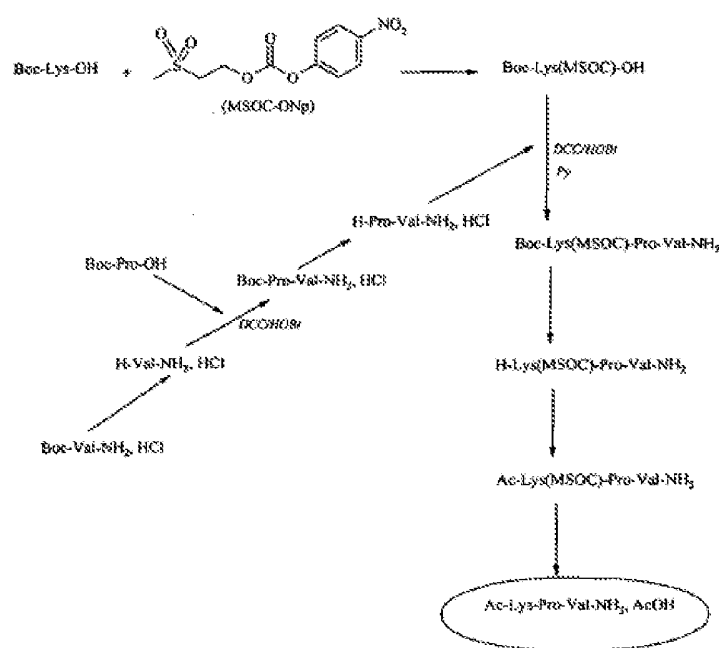
A síntese em solução apresenta, quanto a ela, a vantagem de poder preparar grandes quantidades de produto num só lote. Todas as reacções são realizadas em solução sem utilização de reagente suportado sobre uma resina como no caso precedente. Este é, em síntese peptídica, o método escolhido para uma síntese industrial.

Podem igualmente citar-se as reacções de hemi-síntese a partir de péptidos naturais. Elas consistem na hidrólise trabalhada (mais frequentemente por via enzimática) de péptidos naturais conduzindo a uma mistura de fragmentos de natureza peptídica que são separados, depois eventualmente derivados para obter os compostos desejados.

### **Síntese em solução**

Que seja do conhecimento do requerente, uma única publicação descreve a síntese em solução de compostos diamidas do tripéptido KPV, sendo o único composto exemplificado Ac-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (Eberle et al., 1975).

Nesta síntese, a cadeia lateral da lisina é protegida por um grupo protector MSOC introduzido sobre Boc-Lys-OH para formar Boc-Lys(MSOC)-OH. A lisina N( $\alpha$ ),N( $\epsilon$ ) diprottegida é acoplada com Boc-Pro-Val-NH<sub>2</sub>, HCl pelo método clássico DCC/HOBt. O reagente Boc-Pro-Val-NH<sub>2</sub>, HCl é ele próprio obtido em 2 etapas a partir de Boc-Pro-OH e de Boc-Val-NH<sub>2</sub>. O rendimento global é de 33% calculado em relação a Boc-Lys(MSOC)-OH. O esquema de síntese global é ilustrado no esquema (I) abaixo:



Esquema 1

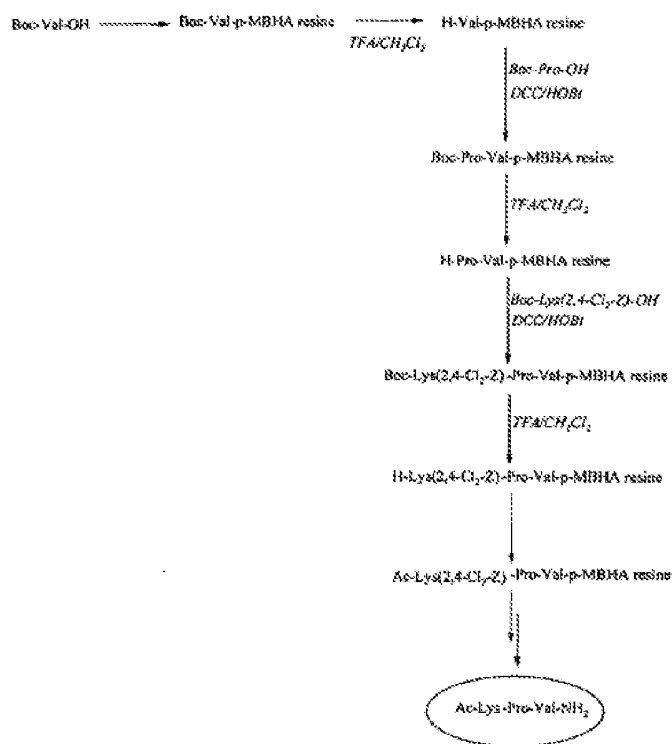
Uma preparação sumária e incompleta deste mesmo composto Ac Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (sal não especificado) e de seu homólogo diacetilado Ac-Lys(Ac)-Pro-Val-NH<sub>2</sub> é citada no pedido de patente europeia N° EP0317573 (Lipton).

Noutros documentos, tais como o pedido internacional n°W00056353 (Lipton), o composto Ac-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> é citado mas é fornecida apenas uma indicação do modo de síntese. É especificado que «os péptidos foram preparados por síntese peptídica em fase sólida e purificados por cromatografia líquida de elevada resolução em fase inversa».

### Em Fase sólida:

Em fase sólida, a síntese de Ac-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> é descrita em série L com um rendimento global de 56,1% (Sawyer, 1981).

Sempre em fase sólida, o artigo de Staples et al. (1985) descreve uma síntese peptídica permitindo a obtenção do composto Ac-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> mas com uma incoerência entre a estrutura e as análises de aminoácidos indicando a presença de Glicina.. A metodologia em fase sólida utilizada por Sawyer na sua tese (Sawyer, 1981) é generalizada à síntese de péptidos Ac-Péptido-NH<sub>2</sub> (Sawyer, 1982) sem que o péptido Ac-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> seja exemplificado nem citado. Nesta metodologia (Sawyer, 1981; 1982), a resina é uma resina de tipo p-metilbenzidrilamina que permite a obtenção directa com bons rendimentos da forma carboxamida (CO-NH<sub>2</sub>) após clivagem do péptido da resina pelo ácido fluorídrico HF. Os aminoácidos são introduzidos sob a sua forma N-protegida por um Boc e acoplados pela técnica clássica DCC/HOBt. No caso da lisina, esta é introduzida sob forma de N( $\alpha$ )Boc, N( $\alpha$ )-2,4-Cl<sub>2</sub>-Z-Lys-OH. Quando o péptido é sintetizado, a protecção da amina N( $\alpha$ ) do último aminoácido acoplado é desprotegida e o aminoácido terminal é acetilado por um excesso de N-acetilimidazol antes de clivagem da resina. Por esta tecnologia, o tripéptido Ac-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub> é sintetizado com um rendimento global de 56,1% (Sawyer, 1981), segundo o esquema 2 abaixo:



Esquema 2

**Princípio geral das sínteses descritas no estado da técnica:**

No esquema 1, o intermediário chave que permite a obtenção de diamidas do tripéptido KPV é Boc-Lys(MSOC)-Pro-Val-NH<sub>2</sub>, sendo os dois grupos protectores libertados em condições operatórias diferentes. Libertando especificamente o grupo protector N(α) da lisina (Boc), a função amina livre é amidificada, depois a função N(ε) da lisina é por sua vez libertada.

Mais geralmente, a síntese de derivados de tipo (I) pode ser concebível a partir de intermediários de síntese do tripéptico H-Lys-Pro-Val-OH (ou de derivados) dado que as duas funções aminas N(α) e N(ε) da lisina estão protegidas

por grupos protectores lábeis em condições operatórias diferentes.

Os derivados diprotégidos do tripéptido estão descritos no estado da técnica.

Assim, a patente americana US 5580855 (Ferreira) descreve a síntese em fase sólida do tripéptico H-Lys-Pro-Val-OH, utilizando o FMOC como grupo protector da função amina em  $\alpha$  e como fase sólida um polímero polimetacrilamida, sintetizado a partir dos três monómeros diferentes. A introdução dos aminoácidos faz-se através da sua activação sob forma de anidrido simétrico. No caso da lisina, a função amina N( $\epsilon$ ) está protegida por um Boc. No fim da síntese, o tripéptido é libertado do suporte sólido por utilização de ácido trifluoroacético (que desprotege também os grupos Boc), sendo o FMOC previamente libertado pela piperidina a 20% em DMF.

A preparação do intermediário H-Lys(Boc)-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (ou de seus sais) é descrita nomeadamente por Suli-Vargha et al. (1987), Suli-Vargha et al. (1984), Schwyzer et al. (1963) bem como no pedido de patente europeia publicado sob o n° EP 78167.

Entre os outros compostos intermediários protegidos, pode citar-se por exemplo H-Lys(formil)-Pro-Val-NH<sub>2</sub>, HCl preparado a partir de Z-Lys(formil) Pro-Val-NH<sub>2</sub> (Suli-Vargha et al., 1987), ou H-Lys(Z)-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (ou seus sais) (Yasutake e Powers, 1981), H-Lys(Tosyl)-Pro-Val-NH<sub>2</sub> (Hofmann et al., 1960).

Como exposto anteriormente, os processos de síntese de derivados diamidas do tripéptido KPV do estado da técnica possuem inconvenientes:

(a) os processos de síntese em fase sólida permitem a obtenção de derivados diamidas do tripéptido KPV com um grau de pureza satisfatório mas são adaptados apenas à produção de fracas quantidades de produto final, de algumas miligramas a algumas centenas de miligramas, incompatíveis com as necessidades industriais;

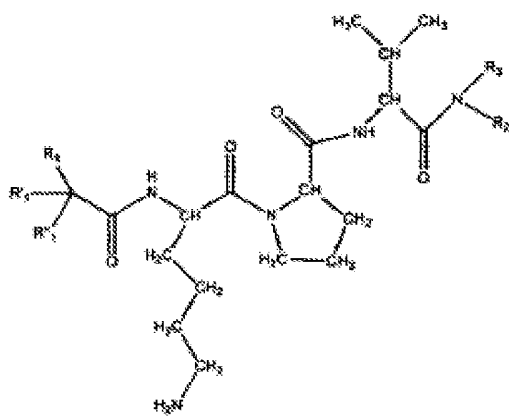
(b) os processos de síntese em solução permitem a preparação de grandes quantidades do produto final mas com um rendimento insuficiente, da ordem de 33%. Estes processos de síntese em solução necessitam das etapas posteriores de purificação do produto final, longas e dispendiosas, e conduzem a uma perda quantitativa significativa do produto quando se passa da forma não purificada para a forma purificada.

Existe portanto uma necessidade no estado da técnica relativamente a um processo de síntese de derivados diamidas do tripéptido KPV para obter directamente grandes quantidades do produto final, com elevado rendimento e sem necessitar de etapa específica de purificação.

### **SUMÁRIO DA INVENÇÃO**

Fornece-se esse processo de síntese de um derivado diamida do tripéptido KPV de acordo com a invenção. O processo de síntese de acordo com a invenção pode realizar-se com qualquer um dos estereoisómeros de cada um dos resíduos de aminoácido Lisina (K), Prolina (P) ou Valina (V).

A invenção tem por objecto um processo de síntese em solução de um derivado diamida do tripéptido KPV de fórmula (I) ou ainda de um sal de um derivado de fórmula (I) seguinte:



independentemente da estereoquímica dos aminoácidos utilizados, na qual:

a)  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$ , representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou

- alquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_1$  e  $R'_1$  podem formar com  $C(R''_1)$  um ciclo saturado de 3 a 7 átomos, eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados

e/ou contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou N,

com a condição do grupo  $R_1(R'_1)(R''_1)CO$  não representar um resíduo aminoácido ou um resto peptídico;

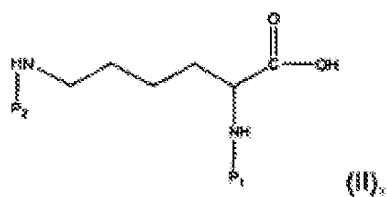
b)  $R_2$  e  $R_3$  representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou representam

- alquilo  $C_1-C_{24}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_2$  e  $R_3$  podem formar com o átomo de azoto um ciclo saturado de 5 ou 6 átomos, eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados, ciclo saturado contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou ainda um átomo de azoto suplementar,

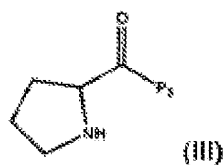
com a condição do grupo  $N(R_2)(R_3)$  não representar um aminoácido ou um resto peptídico;

sendo o referido processo caracterizado por compreender as seguintes etapas:

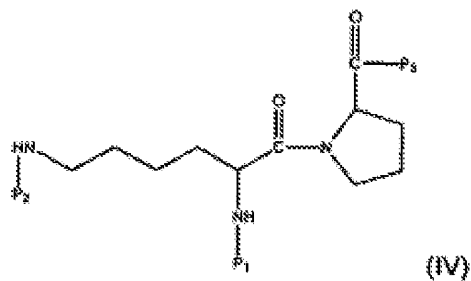
a) reacção de um resíduo de lisina diprotectado de fórmula (II) seguinte:



eventualmente salificado por uma base mineral ou orgânica, na qual  $P_1$  e  $P_2$ , diferentes um do outro, representam cada um independentemente do outro um grupo protector, com um resto de Prolina de fórmula (III) seguinte:



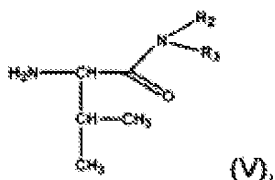
eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico, na qual  $P_3$  representa cada um grupo protector diferente de um qualquer dos grupos protectores  $P_1$  e  $P_2$ , ou na qual  $P_3$  representa um grupo hidroxilo, em presença de um reagente de activação ou de um reagente de acoplamento num solvente, a fim de obter o composto de fórmula (IV) seguinte:



na qual  $P_1$ ,  $P_2$  e  $P_3$  têm os significados acima.

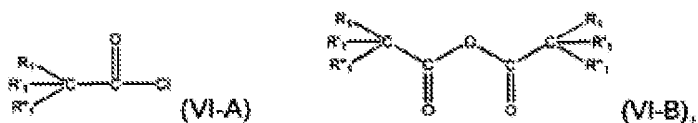
b)

1) acoplamento, sobre a função C-terminal do resíduo Prolina do composto de fórmula (IV) na qual  $P_3$  representa OH, de um composto de valina de fórmula (V) seguinte:

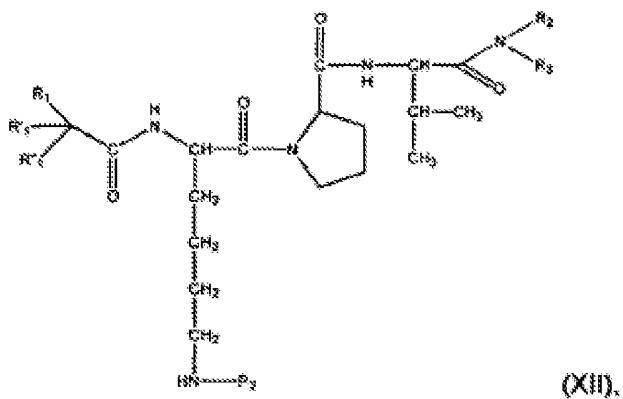


na qual  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima, eliminação do grupo protector  $P_1$ ,

2) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  em posição N-terminal do resíduo lisina por um composto de fórmula (VI-A) ou (VI-B) seguinte:



a fim de obter o composto de fórmula (XII) seguinte:



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima;

sendo a ordem das etapas 1) e 2) indiferente;

c) Eliminar o grupo protector  $P_2$  do composto de fórmula (XII) a fim de obter o composto de fórmula (I), eventualmente sob a forma de um sal mineral ou orgânico.

Na fórmula (I), os substituintes  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$  são idênticos ou diferentes. Eles podem tomar os valores:

- hidrogénio
- alquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_1$  e  $R'_1$  podem formar com  $C(R''_1)$  um ciclo saturado de 3 a 7 átomos, eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados e/ou contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou N.

Em contrapartida, o grupo  $R_1(R'_1)(R''_1)CO$  não pode representar um resto aminoácido ou uma cadeia peptídica.

Na fórmula (I), os substituintes  $R_2$  e  $R_3$  são idênticos ou diferentes. Eles podem tomar os valores:

- hidrogénio

- alquilo  $C_1-C_{24}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_2$  e  $R_3$  podem formar com o átomo de azoto um ciclo saturado de 5 ou 6 átomos, eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados, ciclo saturado contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou ainda um átomo de azoto suplementar.

Em contrapartida o grupo  $N(R_2)(R_3)$  não pode constituir um aminoácido ou uma cadeia peptídica.

Por «alquilo» entende-se um grupo hidrocarbonado alifático linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo, podendo o alquilo ser não substituído ou substituído sobre os átomos de carbono por um ou vários substituintes idênticos ou diferentes, sendo os substituintes escolhidos entre: arilo, hidroxí, alcoxi, ariloxi, alquiloxi, aralquiloxi. Por «ramificado» entende-se um alquilo inferior tal como metilo, etilo ou propilo que está ligado a uma cadeia linear alquilo. Os grupos alquilo preferidos compreendem os grupos «alquilo inferior» tendo de 1 a 8 átomos de carbono. Exemplos de grupos alquilo são metilo, etilo, i-propilo, t-butilo, heptilo, decilo ou ciclohexilmetilo.

Por «cicloalquilo» entende-se um ciclo não aromático compreendendo de 4 a 10 átomos de carbono, podendo o alquilo cíclico ser parcialmente insaturado. Cicloalquilos preferidos incluem ciclopentilo, ciclo-hexilo, ciclo-heptilo, adamantilo, octa-hidronaftilo e per-hidronaftilo.

Por «arilo» entende-se um radical carbocíclico aromático contendo de 5 a 10 átomos de carbono. Grupos arilo incluem o fenilo ou o naftilo não substituídos ou o fenilo ou o naftilo substituídos por um ou vários substituintes que podem ser idênticos ou diferentes, incluindo os substituintes alquilo, arilo, aralquilo, hidroxí, alcoxi, ariloxi, aralcoxi, carboxi, arílo, halo, nitro, tri-halometoilo, ciano, alcóxicarbonilo, arilóxicarbonilo, aralcoxicarbonilo, carbamoílo, alquilcarbamoílo, dialquilcarbamoílo.

Por «alcoxi» entende-se um grupo alquilo-O no qual o grupo alquilo é tal como definido anteriormente. Os grupos alcoxi incluem metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi e heptoxi.

Por «ariloxi» entende-se um grupo arilo-O no qual o grupo arilo é tal como definido anteriormente. Os grupos ariloxi incluem o fenoxi e o naftoxi.

Por «aralquilo» entende-se um grupo alquilo substituído por um ou vários grupos arilo.

Por «aralquiloxi» entende-se um grupo aralquilo-O no qual o grupo aralquilo é tal como definido anteriormente. Os grupos aralquiloxi incluem o benziloxi.

Por «alcoxicarbonilo» entende-se um grupo  $-O-CO-$ , tal como metoxi- e etoxi-carbonilo.

Por «ariloxicarbonilo» entende-se um grupo arilo- $O-CO-$ , tal como fenoxi- e naftoxi-carbonilo.

Por «halo» entende-se um átomo de flúor, de cloro ou de bromo.

O processo de acordo com a invenção permite em particular a obtenção desses derivados sob forma salificada. Os sais dos compostos conformes com a invenção são escolhidos entre os sais de um ácido mineral ou orgânico como por exemplo os hidrocloreto, hidrobrometo, sulfato, acetato, citrato, tartrato, lactato, fosfato, hidrogenofosfato, propionato ou succinato.

O processo de acordo com a invenção apresenta também a vantagem de ser aplicável à escala industrial para a produção de lotes de derivados diamidas do tripéptido KPV de vários quilogramas e isto qualquer que seja a estereoquímica dos aminoácidos utilizados.

A invenção refere-se igualmente aos derivados diamidas do tripéptido KPV de fórmula (I) definidos acima com a condição suplementar de  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  não representarem simultaneamente um átomo de hidrogénio (fórmula IA).

Estes derivados podem estar sob forma de sais, em particular os citados anteriormente.

## **DESCRIÇÃO DAS FIGURAS**

A **Figura 1A** ilustra um modo de realização do processo de acoplamento entre o resíduo lisina e o resíduo prolina, no qual a função carboxilo do resíduo prolina está protegida por um grupo protector  $P_3$ .

A **Figura 1B** ilustra um modo de realização do processo de acoplamento entre o resíduo lisina e o resíduo prolina, no qual a função carboxilo do resíduo prolina está livre ( $P_3=OH$ ).

A **Figura 2** ilustra o primeiro modo de realização preferido da etapa b) do processo de acordo com a invenção.

A **Figura 3** ilustra o segundo modo de realização preferido da etapa b) do processo de acordo com a invenção.

A **Figura 4** ilustra o terceiro modo de realização preferido da etapa b) do processo de acordo com a invenção.

A **Figura 5** ilustra a etapa c) do processo de acordo com a invenção.

A **Figura 6** representa o esquema reaccional completo do melhor modo de realização do processo de síntese de derivados diamidas do tripéptido KPV da invenção.

## **DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO**

Demonstra-se de acordo com a invenção que uma combinação particular de etapas de síntese e a utilização de uma combinação particular de grupos protectores permite preparar

derivados diamidas do tripéptido KPV, ou um sal desses compostos, num processo de síntese em solução com um rendimento final bem superior ao rendimento obtido com os processos conhecidos do estado da técnica, e não necessitando de nenhuma etapa de purificação final, como por exemplo por cromatografia, nomeadamente por cromatografia de permuta iónica.

Demonstrou-se que a escolha criteriosa dos grupos protectores, dos reagentes utilizados e o encadeamento das reacções permitia levar o rendimento, para uma síntese realizada em solução, de 33% (Eberle et al., 1975) para mais de 70% no caso de Ac-Lys-Pro-Val-NH<sub>2</sub>.

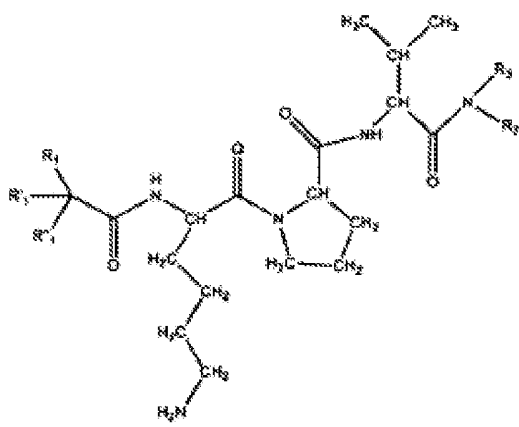
As combinações reagentes/grupos protectores e o encadeamento das etapas da reacção são novas para a preparação dos compostos de fórmula (I).

Além disso, o processo de síntese da invenção é aplicável à escala industrial. O isolamento do produto final é simples e não necessita de qualquer purificação por cromatografia ou por coluna de permuta iónica. Estas técnicas pesadas não se realizam em nenhum estágio da síntese. À saída da etapa c) do processo de acordo com a invenção, o derivado diamida do tripéptido KPV obtém-se directamente com uma pureza muito grande. No fim da síntese, a pureza do produto isolado, cristalizado, pode ser superior a 95%, como foi determinado por cromatografia líquida de elevada resolução (HPLC).

Por outro lado, se o composto (I) deve ser obtido sob forma salificada, realiza-se essa salificação in situ aquando da última etapa do processo, consistindo em eliminar o grupo

protector  $P_2$ , e não necessita de nenhuma reacção suplementar ou realização particular.

A invenção tem por objecto um processo de síntese em solução de um derivado diamida do tripéptido KPV de fórmula (I) ou ainda de um sal de um derivado de fórmula (I) seguinte:



independentemente da estereoquímica dos aminoácidos utilizados, na qual:

a)  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$ , representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou

- alquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo

- ou  $R_1$  e  $R'_1$  podem formar com  $C(R''_1)$  um ciclo saturado ou insaturado de 3 a 7 átomos, eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados e/ou contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou N,

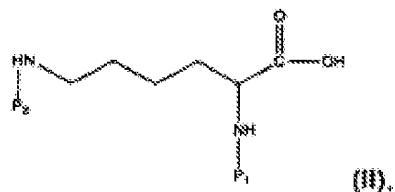
com a condição do grupo  $R_1(R'_1)(R''_1)CO$  não representar um resíduo aminoácido ou um resto peptídico;

b)  $R_2$  e  $R_3$  representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou representam

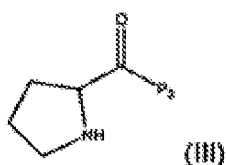
- alquilo  $C_1-C_{24}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_2$  e  $R_3$  podem formar com o átomo de azoto um ciclo saturado de 5 ou 6 átomos, e eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados, ciclo saturado contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou ainda um átomo de azoto suplementar,  
com a condição do grupo  $N(R_2)(R_3)$  não representar um aminoácido ou um resto peptídico;

sendo o referido processo caracterizado por compreender as seguintes etapas:

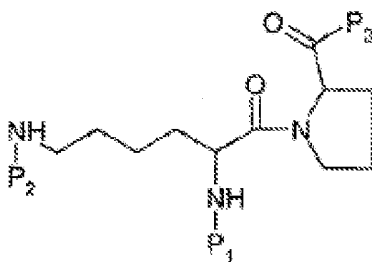
a) reacção de um resíduo de lisina diprottegido de fórmula (II) seguinte:



eventualmente salificado por uma base mineral ou orgânica, na qual  $P_1$  e  $P_2$ , diferentes um do outro, representam cada um independentemente do outro um grupo protector, com um resto de Prolina de fórmula (III) seguinte:



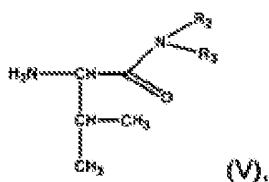
eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico, na qual  $P_3$  representa um grupo protector diferente de um qualquer dos grupos protectores  $P_1$  e  $P_2$  ou na qual  $P_3$  representa um grupo hidroxilo, em presença de um reagente de activação ou de um reagente de acoplamento num solvente, a fim de obter o composto de fórmula (IV) seguinte:



na qual  $P_1$ ,  $P_2$  e  $P_3$  têm os significados acima.

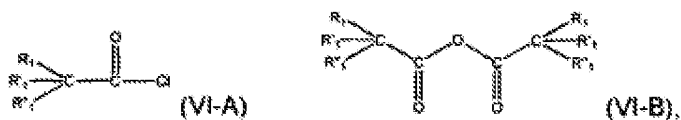
b)

1) acoplamento, sobre a função C-terminal do resíduo Prolina do composto de fórmula (IV) na qual  $P_3$  representa OH, de um composto de valina de fórmula (V) seguinte:

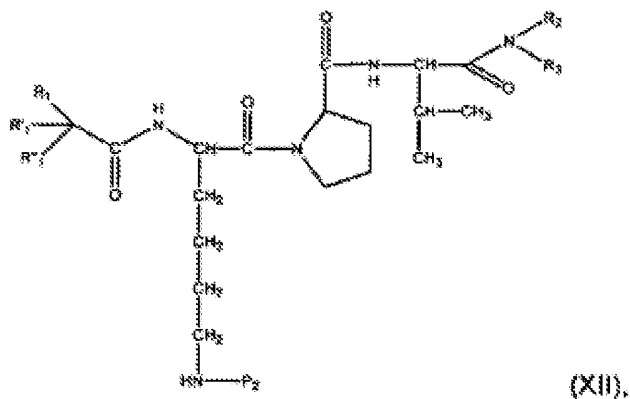


na qual  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima, eliminação do grupo protector  $P_1$ ,

2) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  em posição N-terminal do resíduo lisina por um composto de fórmula (VI-A) ou (VI-B) seguinte:



a fim de obter o composto de fórmula (XII) seguinte:



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima;

sendo a ordem das etapas 1) e 2) indiferente;

c) Eliminar o grupo protector  $P_2$  do composto de fórmula (XII) a fim de obter o composto de fórmula (I), eventualmente sob a forma de um sal mineral ou orgânico.

Na etapa c), a eliminação do grupo protector  $P_2$  realiza-se por hidrogenólise. Quando a hidrogenólise se realiza com um ácido contido no meio reaccional, o referido ácido desempenha o papel de um agente salificante da função amina da lisina assim libertada. O sal final é de preferência escolhido entre os hidrocloreto, hidrobrometo, sulfato, acetato, citrato, tartrato, lactato, fosfato, hidrogenofosfato, propionato ou succinato.

De acordo com a invenção, o processo tal como definido acima pode ser realizado com um qualquer dos estereoisómeros de cada um dos resíduos de aminoácidos Lisina, Prolina ou Valina.

Preferencialmente, de acordo com o processo da invenção, o sal é obtido no decurso da etapa c) por introdução do ácido correspondente.

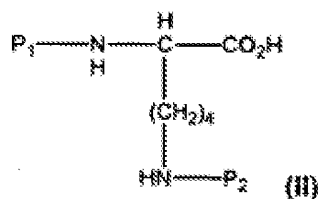
Preferencialmente, o ácido utilizado é escolhido entre o ácido acético, o ácido clorídrico, o ácido bromídrico, o ácido sulfúrico, o ácido cítrico, o ácido tártrico, o ácido láctico, o ácido fosfórico, o ácido hidrogenofosfórico, o ácido propiónico ou o ácido succínico.

De maneira totalmente preferida, o ácido é o ácido acético ou clorídrico.

Segundo um modo preferido de realização, o processo da invenção é também caracterizado por os grupos protectores  $P_1$  e  $P_2$  representarem, independentemente um do outro, Adoc (= 1-adamantiloxicarbonilo). BOC (= t-butiloxicarbonilo), 2-bromo-Z (= 2-bromobenziloxicarbonilo, ou 2-cloro-Z (= 2-clorobenziloxicarbonilo), ou Fmoc (= 9-fluorenilmetoxicarbonilo) ou Formilo ou Nicotinoílo ou 4-nitro-Z (= 4-nitrobenziloxicarbonilo) ou Tfa (= trifluoroacetilo) ou Tos (= p-toluenossulfonilo) ou Z (= benziloxicarbonilo) ou adpoc (= 1-(adamantil)-1-metiletoxicarbonilo).

Para preparar os compostos de fórmula (I) em solução e/ou seus sais, são concebíveis várias vias de síntese em que a parte peptídica é construída da extremidade N-terminal para a extremidade C-terminal ou ao inverso, da extremidade C-terminal para a extremidade N-terminal. Preferencialmente, a cadeia peptídica é construída da extremidade N-terminal para a extremidade C-terminal.

O produto de partida do processo de síntese é a lisina diprottegida por 2 grupos protectores lábeis em condições operatórias diferentes de estrutura:



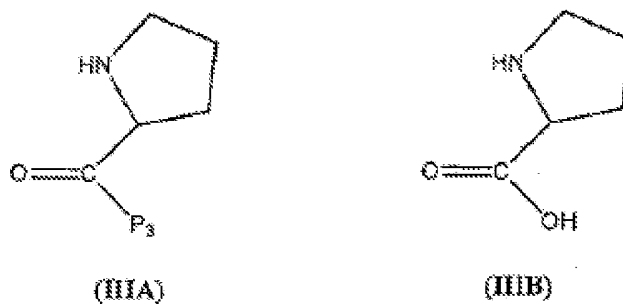
onde  $P_1$  e  $P_2$  são diferentes e podem designar os grupos protectores seguintes, com a condição de  $P_1$  ser diferente de  $P_2$  e de  $P_1$  e  $P_2$  serem lábeis em condições operatórias

distintas:  $P_1$ ,  $P_2$  = Adoc = (1-adamantiloxicarbonilo), Boc (= t-butiloxicarbonilo), 2-bromo-Z (= 2-bromobenziloxicarbonilo), ou 2-cloro-Z (= 2-clorobenziloxicarbonilo), ou Fmoc (= 9-fluorenilmetoxicarbonilo) ou Formilo ou Nicotinoílo ou 4-nitro-Z (= 4-nitrobenziloxicarbonilo) ou Tfa (= trifluoroacetilo) ou Tos (= p-toluenossulfonilo) ou Z (= benziloxicarbonilo) ou Adpoc (= 1-(adamantil)-1-metiletoxicarbonilo), sendo esta lista não exaustiva apenas dada a título de exemplo.

De modo totalmente preferido, os grupos protectores  $P_1$  e  $P_2$  são escolhidos de maneira a serem eliminados respectivamente em condições operatórias distintas.

O composto de fórmula (I) pode em certos casos ser salificado por uma base, preferencialmente uma base orgânica e, mais preferencialmente ainda, uma amina orgânica como por exemplo a ciclo-hexilamina ou a etildi-isopropilamina. Preferencialmente, o composto de estrutura (II) é Boc-Lys (Z)-OH, (tendo  $P_1$  e  $P_2$  respectivamente os valores Boc e Z).

O acoplamento peptídico permitindo a introdução do segundo aminoácido realiza-se quer com um derivado C-protégido da prolina de estrutura (IIIA) (Figura 1A) quer com a prolina de estrutura (IIIB) (Figura 1B), sendo ambos os compostos (IIIA) e (IIIB) de fórmula (III).



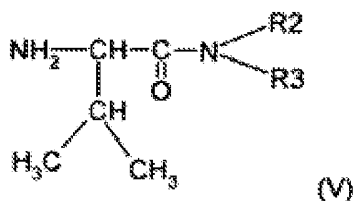
Os compostos de fórmula (III) são eventualmente salificados por um ácido mineral ou orgânico. Os compostos de fórmula (III) são escolhidos entre H-Pro-AMC, H-Pro-p-nitrobenziléster, H-Pro-OtBu, H-Pro-OBzl, H-Pro-OMe, H-Pro-OEt, preferencialmente H-Pro-OBzl ou H-Pro-OMe ou H-Pro-OEt.

O acoplamento peptídico da lisina diprottegida (II) com a prolina C-prottegida (III) realiza-se com o auxílio dos reagentes de activação ou de acoplamento clássicos em síntese peptídica como as carbodi-imidas tais como a DCC (= dicitclohexilcarbodi-imida) ou as formas hidrossolúveis de carbodi-imidas tais como a EDC (= hidrocloreto de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodi-imida), sais de fosfónio como o BOP (= hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi) tris(dimetilamino)fosfónio), o PyBOP (= hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidino)fosfónio), o PyBROP (= hexafluorofosfato de bromotripirrolidino)fosfónio), o PyClOP (= hexafluorofosfato de clorotripirrolidino)fosfónio), ou ainda com o auxílio de reagentes tais como o PyClU (=hexafluorofosfato de cloro-N,N,N',N'-bis(tetrametileno)formamidínio), a N-hidroxisuccinamida, a EEDQ (= 1-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-di-hidroquinolina), o CDI (= carbonildi-imidazol) ou ainda os cloroformiatos tais como o cloroformiato de etilo ou o cloroformiato de isobutilo. Quando o acoplamento se realiza com o auxílio de reagentes de acoplamento tais como as carbodi-imidas, podem adicionar-se aditivos tais como HOBt (= 1-hidroxibenzotriazol) ou N-hidroxisuccinimidina aquando da reacção para limitar a racemização.

Preferencialmente, segundo o esquema da Figura 1A, o acoplamento peptídico realiza-se com carbodi-imidas adicionadas ou não de 1-hidroxibenzotriazol.

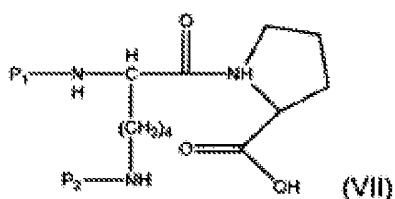
Preferencialmente, segundo o esquema da Figura 1B, o acoplamento realiza-se com a N-hidroxisuccinimida. Nos dois casos, os solventes preferidos são os solventes dipolares apróticos, preferencialmente a dimetilformamida (DMF), a N-metilpirrolidona (NMP), ou solventes apróticos tais como o 1,2-dimetoxietano (DME), o tetra-hidrofurano (THF), o dioxano, puros ou em mistura.

O último acoplamento peptídico realiza-se com a valina C-amidificada (V) eventualmente salificada por um ácido mineral ou orgânico (tendo R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> os valores já explicitados), sendo este intermediário (V) ele próprio preparado a partir de BOC-Val-OH pelos métodos de síntese de amidas a partir de ácidos carboxílicos.



Assim, o intermediário (IV) pode ser acoplado ao intermediário (V) segundo o esquema da Figura 2 ou o esquema da Figura 3.

Do mesmo modo, o intermediário (VII) pode ser acoplado a (V) segundo o esquema da Figura 3, tendo o composto (VII) a fórmula seguinte:

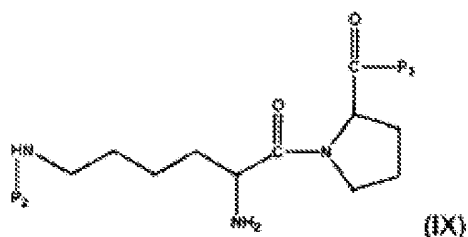


**Primeiro modo de realização preferido da etapa b) do processo**  
**(Figura 2)**

Segundo o primeiro modo de realização preferido do processo de síntese dos derivados diamidas do tripéptido KPV, o dipéptido KP (IV) possui um resíduo de prolina cujo grupo carboxílico está protegido por um grupo protector  $P_3$  e o acoplamento do dipéptido KP (IV) com um derivado de valina realiza-se após eliminação do grupo protector  $P_1$ , depois amidificação da função amina livre, assim libertada  $NH_2(\alpha)$  do resíduo lisina. Este primeiro modo de realização preferido é ilustrado na Figura 2.

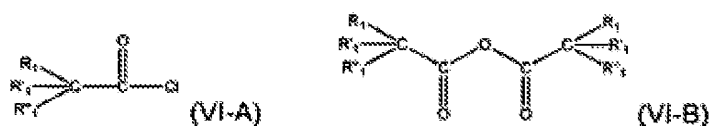
Segundo este modo de realização preferido, o processo de síntese dos derivados diamidas do tripéptido KPV, tal como definido acima, caracteriza-se por a etapa b) compreender as etapas seguintes:

b1) Eliminação do grupo protector  $P_1$  do composto de fórmula (IV) na qual  $P_3$  representa um grupo protector, de maneira a obter o composto de fórmula (IX):

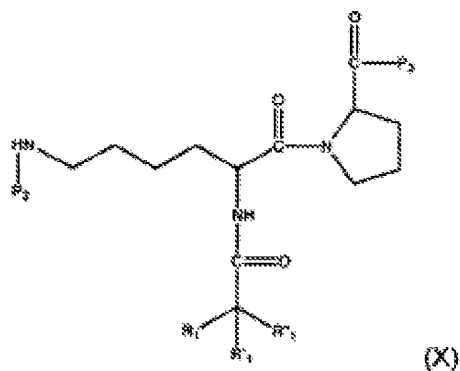


na qual  $P_1$  tem a mesma significação que acima e  $P_3$  representa um grupo protector;

b2) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  do resíduo lisina do composto de fórmula (IX) com o composto de fórmula (VI-A) ou o composto de fórmula (VI-B) seguinte:



nas quais  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  têm as mesmas significações que acima a fim de obter o composto de fórmula (X):



na qual  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$ ,  $P_1$  têm a mesma significação que acima e  $P_3$  representa um grupo protector;

b3) Eliminação do grupo protector  $P_3$  do composto de fórmula (X) a fim de obter o composto de fórmula (XI):



b4) Acoplar o composto de fórmula (XI) com o composto de valina de fórmula (V) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima.

Segundo o processo ilustrado na Figura 2, a função amina  $N(\alpha)$  da lisina é libertada nas condições necessárias determinadas pela natureza do grupo protector  $P_1$  utilizado. Por exemplo, se  $P_1$  designa o grupo BOC (= t-butiloxicarbonilo), a função amina  $N(\alpha)$  da lisina pode ser libertada tratando o composto (IV) correspondente com um ácido mineral, tal como o ácido clorídrico aquoso, num solvente aprótico tal como o dioxano ou o THF ou ainda numa mistura de solventes tais como THF- $CH_2Cl_2$  ou dioxano- $CH_2Cl_2$ . A reacção é então realizada entre  $-10^\circ C$  e  $40^\circ C$ , preferencialmente entre  $4^\circ C$  e  $30^\circ C$ . A função amina  $N(\alpha)$  da lisina do composto (IX) é em seguida amidificada nas condições usuais, como por exemplo, por reacção com um cloreto de ácido de estrutura (VI-A) ou um anidrido simétrico de estrutura (VI-B) ou um anidrido dissimétrico, não sendo esta lista exaustiva.

Preferencialmente, a reacção realiza-se com um cloreto de ácido (VI-A) ou um anidrido (VI-B). O solvente é preferencialmente um solvente dipolar aprótico tal como a DMF ou a NMP ou um solvente aprótico tal como o THF, o dioxano, sendo estes solventes utilizados puros ou em mistura, ou uma mistura de solventes tal como  $CH_2Cl_2$ /água por exemplo.

Se o composto (IX) está sob a forma salificada, o meio reaccional é adicionado de uma quantidade suficiente de base orgânica tal como a trietilamina, a etildi-isopropilamina, a butilamina por exemplo, ou mineral tal como NaOH, KOH,  $Na_2CO_3$ ,  $K_2CO_3$ ,  $KHCO_3$ ,  $NaHCO_3$ , por exemplo.

A função ácida C-terminal do composto (X) assim obtido é então libertada nas condições operatórias necessárias determinadas pela natureza do grupo protector  $P_3$ . Por exemplo, se  $P_3$  designa o éster benzílico OBzl, a função ácida pode ser libertada adicionando ao composto (X) uma base mineral ou orgânica, preferencialmente uma base mineral tal como NaOH por exemplo. Neste último caso, esta desprotecção realiza-se em meio alcoólico tal como etanol ou metanol ou meio hidroalcoólico, a uma temperatura  $-5^{\circ}\text{C}$  ao refluxo, preferencialmente entre  $+4^{\circ}\text{C}$  e  $+40^{\circ}\text{C}$ . O composto (XI) é então obtido após acidificação do meio, preferencialmente por um ácido mineral tal como o ácido clorídrico.

O último acoplamento é então realizado entre o composto (XI) e o composto (V), estando este último eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico.

Os métodos de acoplamento são escolhidos entre os anteriormente citados. Preferencialmente, realiza-se o acoplamento com o auxílio de sais de fosfónio, tais como o BOP ou o PyBOP ou o PyBROP ou o PyCloP ou o PyClU, ou utilizando sais de urónio tais como o HBPYU (= hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-bis(tetrametileno)urónio) ou o HBTU (= hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurónio) ou o HATU (= hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametilurónio). Mais preferencialmente, realiza-se o acoplamento com o BOP ou com o HBTU. Realiza-se este acoplamento num solvente dipolar aprótico tal como a DMF ou a NMP ou num solvente aprótico tal como o THF ou o dioxano. A reacção é conduzida em meio básico, sendo a base preferencialmente uma base orgânica tal como a trietilamina, a etildi-isopropilamina ou a butilamina por exemplo, sendo a

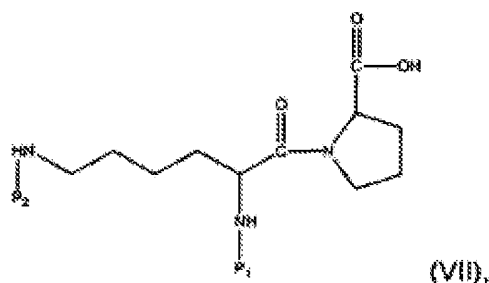
temperatura fixado preferencialmente entre  $-10^{\circ}\text{C}$  e  $40^{\circ}\text{C}$ . Obtém-se assim o composto (XII).

**Segundo modo de realização preferido da etapa b) do processo (Figura 3)**

De acordo com um segundo modo preferido de realização do processo de síntese de derivados diamidas do tripéptido KPV, o dipéptido KP possui a função carboxílica do resíduo de prolina que está protegida por um grupo protector  $P_3$ , depois elimina-se o grupo protector  $P_3$  antes do acoplamento da prolina com o composto de valina (V), depois elimina-se o grupo protector  $P_1$  e a função  $\text{NH}_2(\alpha)$  livre do resíduo lisina é amidificada. O segundo modo de realização preferido é ilustrado na Figura 3.

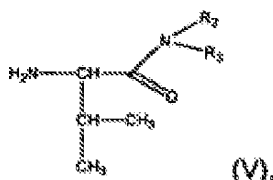
Segundo este modo de realização preferido, o processo de síntese dos derivados diamidas do tripéptido KPV, tal como definido de maneira geral na descrição, caracteriza-se por a etapa b) compreender as etapas seguintes:

b5) Eliminar o grupo protector  $P_3$  do composto de fórmula (IV), no qual o grupo  $P_3$  representa um grupo protector, a fim de obter o composto de fórmula (VII) seguinte:

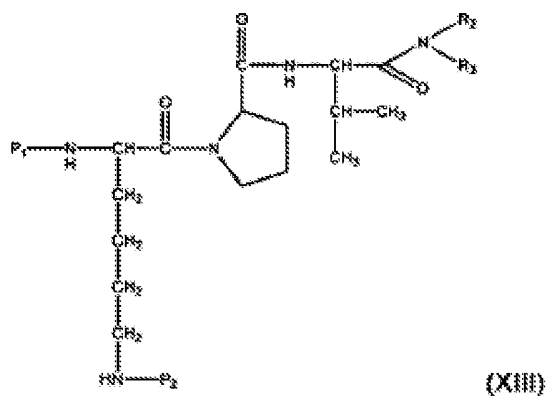


na qual  $P_1$  e  $P_2$  tem a mesma significação que acima;

b6) acoplamento do composto de fórmula (VII) com o composto de valina de fórmula (V), eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:

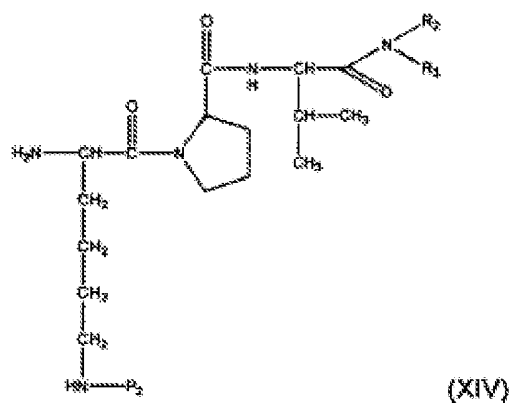


na qual  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima a fim de obter o composto de fórmula (XIII):



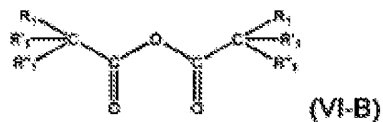
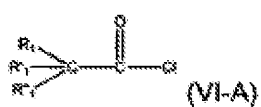
na qual  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima;

b7) Eliminar o grupo protector  $P_1$  do composto de fórmula (XIII) a fim de obter o composto de fórmula (XIV) seguinte e eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:

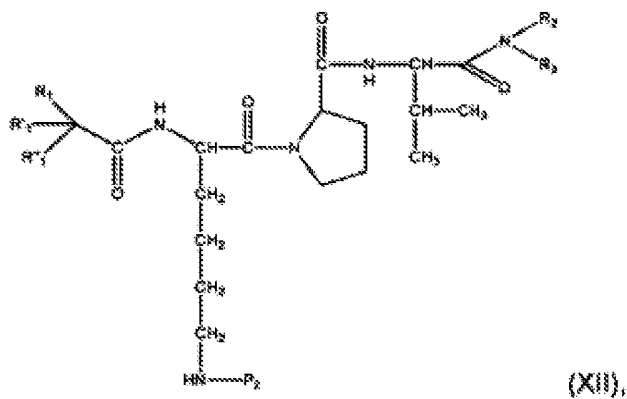


na qual  $P_2$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima;

b8) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  do resíduo lisina do composto de fórmula (XIV) com o composto de fórmula (VI-A) ou o composto de fórmula (VI-B) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:



nas quais  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  têm as mesmas significações que acima a fim de obter o composto de fórmula (XII) seguinte:



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima.

Segundo o processo ilustrado na Figura 3, o dipéptido protegido (IV) é em primeiro lugar saponificado por uma base mineral, tal como a soda, a fim de obter o derivado (VII). Realiza-se o acoplamento peptídico entre (VII) e o derivado de valina (V) (ou um dos seus sais) por um dos métodos anteriormente descritos, preferencialmente utilizando um método usando as carbodi-imidas. Mais preferencialmente, a carbodi-imida utilizada é a EDC. Realiza-se então a reacção num solvente dipolar aprótico como a DMF ou a NMP ou num solvente aprótico como o THF ou o dioxano, em meio básico, por exemplo por adição de uma base orgânica tal como a trietilamina ou a etildi-isopropilamina. A função amina  $N(\alpha)$  do tripéptido (XIII) assim obtida pode então ser libertada em meio ácido, por exemplo pelo ácido clorídrico. Esta desprotecção realiza-se por exemplo por HCl aquoso numa mistura dioxano-diclorometano. O composto (XIV) é então obtido sob forma de hidrocloreto. A função amina  $N(\alpha)$  salificada pode ser amidificada por exemplo por reacção com um anidrido simétrico (VI-B) em meio básico tal como na presença de etildi-isopropilamina ou de trietilamina, num solvente dipolar aprótico como a DMF ou a NMP, preferencialmente a DMF, para conduzir ao tripéptido (XII).

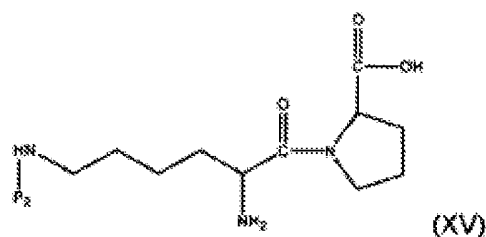
**Terceiro modo de realização preferido da etapa b) do processo (Figura 4)**

Segundo um terceiro modo de realização do processo, utiliza-se o dipéptido KP (XII) cuja função carboxílica do resíduo prolina não está protegida ( $P_3=OH$ ), elimina-se o grupo

protector  $P_1$  e amidifica-se o grupo  $NH_2(\alpha)$  da lisina antes do acoplamento do composto resultante com o resíduo valina (III). Este terceiro modo de realização do processo da invenção é ilustrado na Figura 4.

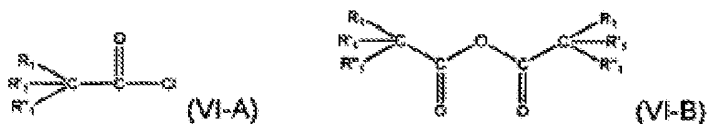
Neste terceiro modo de realização preferido, o processo de síntese dos derivados diamidas do tripéptido KPV, tal como definido de maneira geral na descrição, caracteriza-se por a etapa b) compreender as etapas seguintes:

b9) Eliminar o grupo protector  $P_1$  do composto de fórmula (VII) a fim de obter o composto de fórmula (XV) seguinte, eventualmente salificado por uma base orgânica ou mineral:

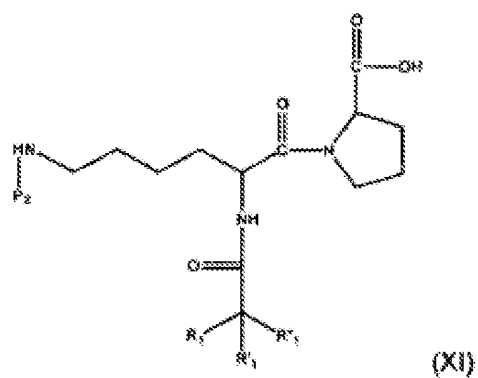


na qual  $P_2$  tem a mesma significação que acima;

b10) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  do resíduo lisina do composto de fórmula (XV) com o composto de fórmula (VI-A) ou o composto de fórmula (VI-B) seguinte:

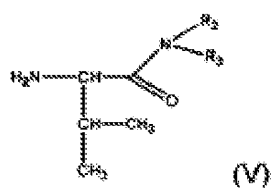


nas quais  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  têm as mesmas significações que acima, a fim de obter o composto de fórmula (XI) seguinte, eventualmente salificado por uma base orgânica ou mineral:

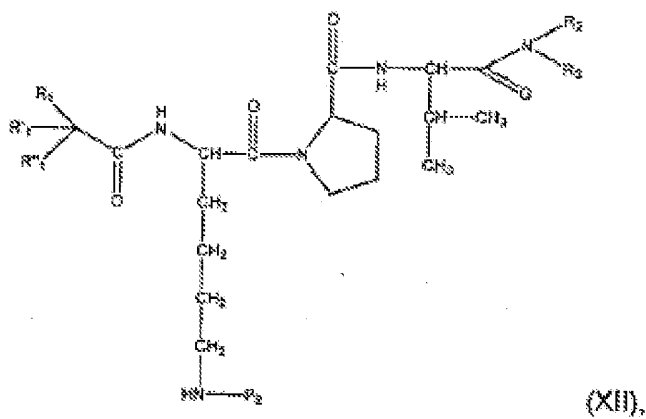


na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  têm a mesma significação que acima;

b11) acoplamento do composto de fórmula (XI) com o composto de valina de fórmula (V) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:



na qual  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima, a fim de obter o composto de fórmula (XII):



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima.

Segundo o processo ilustrado na Figura 4, a função amina  $N(\alpha)$  do derivado (VII) é libertada em meio ácido, por exemplo pelo ácido clorídrico. Realiza-se esta desprotecção por exemplo por HCl aquoso numa mistura dioxano-diclorometano para conduzir ao composto (XV) salificado. A função amina  $N(\alpha)$  pode então ser amidificada como segundo a Figura 3 para conduzir ao derivado (XI).

Realiza-se o acoplamento peptídico de (XI) com o derivado de valina (V) (ou um dos seus sais) por um dos métodos anteriormente descritos, preferencialmente utilizando um método usando sais de fosfónio. Mais preferencialmente, o sal de fosfónio é o BOP. Realiza-se a reacção num solvente dipolar aprótico como a DMF ou a NMP ou num solvente aprótico como o THF ou o dioxano, em meio básico, por exemplo por adição de uma base orgânica tal como a trietilamina ou a etildi-isopropilamina.

#### **Modo de realização preferido da etapa c) do processo**

Na etapa c) do processo elimina-se o grupo protector  $P_2$  do composto de fórmula (XII) a fim de obter o derivado diamida do tripéptido KPV de fórmula (I), eventualmente sob a forma de um sal. A etapa c) do processo é ilustrada na Figura 5.

O composto (XII) obtido segundo um ou outro dos modos de realização ilustrados nas Figuras 2, 3 ou 4, pode então ser facilmente transformado numa etapa para conduzir ao composto

(I) correspondente, sendo esta etapa a desprotecção da função amina N(ε) da lisina, como ilustrado na Figura 5.

Preferencialmente, a função amina N(ε) está protegida por um grupo benziloxicarbonil (Z) e realiza-se a desprotecção por hidrogenação catalisada pelo Paládio sobre carvão. Mais preferencialmente, realiza-se a reacção sob uma pressão de hidrogénio de  $1 \times 10^{-5}$  a  $3 \times 10^{-5}$  Pa (1 a 3 bares) em meio alcoólico, tal como o etanol, e em presença de 1 a 5 equivalentes de um ácido orgânico ou mineral tal como o ácido clorídrico, o ácido bromídrico, o ácido sulfúrico, o ácido acético, o ácido cítrico, o ácido tártrico, o ácido láctico, o ácido fosfórico, o ácido hidrogenofosfórico, o ácido propiónico ou o ácido succínico.

Preferencialmente a hidrogenação realiza-se entre 5°C e 50°C, mais preferencialmente entre 10°C e 30°C. O composto (I) é então directamente obtido sob forma salificada.

#### **Características técnicas gerais preferidas do processo**

De preferência, o processo de acordo com a invenção é caracterizado por no composto de fórmula (II), o grupo protector  $P_1$  ser o t-butiloxicarbonilo (Boc) e o grupo protector  $P_2$  ser o benziloxicarbonilo (Z).

De preferência, o processo de acordo com a invenção é caracterizado por no composto de fórmula (III), o grupo protector  $P_3$  ser o grupo éster benzílico OBzl.

De preferência, o processo de acordo com a invenção é caracterizado por no composto de fórmula (I), os grupos  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  representam cada um, um átomo de hidrogénio.

De preferência, o processo de acordo com a invenção é caracterizado por no composto de fórmula (I), os grupos  $R_2$  e  $R_3$  representarem cada um, um átomo de hidrogénio.

De preferência, o processo de acordo com a invenção é caracterizado por o grupo protector  $P_1$  ser o t-butiloxicarbonilo (Boc), o grupo protector  $P_2$  ser o benziloxicarbonilo (Z) e o grupo protector  $P_3$  ser o grupo éster benzílico OBzl.

### **Melhor modo de realização do processo de acordo com a invenção**

De maneira totalmente preferida, as diamidas derivadas do tripéptido KPV de fórmula (I) são preferencialmente obtidas a partir do composto (II), para o qual  $P_1$  designa o grupo t-butiloxicarbonilo (Boc) e  $P_2$  designa o grupo benziloxicarbonilo (Z), e a partir do composto (III-A) para o qual a função ácido está protegida por um éster benzílico, sendo o composto (III-A) correspondente salificado preferencialmente pelo ácido p-toluenossulfónico.

Estes compostos são preferencialmente utilizados segundo o encadeamento das vias ilustradas sucessivamente na Figura 1A, depois na Figura 2 (primeiro modo de realização preferido da etapa b) do processo), depois na Figura 5, a fim de obter o derivado diamida do tripéptido KPV de fórmula (I).

Segundo a natureza dos substituintes  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$ , o encadeamento das vias preferidas pode permitir uma realização que não necessita do isolamento e/ou da purificação dos intermediários. Assim para  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3 = H$ , o

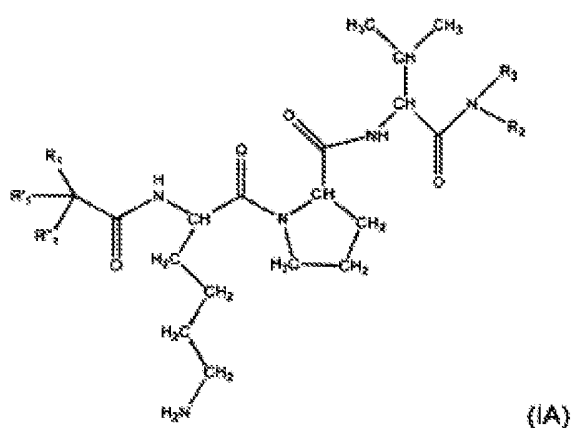
processo mais particularmente preferido utiliza os reagentes e as condições operatórias descritas na Figura 6.

Segundo o modo de realização do processo de síntese de derivados diamidas do tripéptido KPV ilustrado na Figura 6, os compostos intermediários (III), (IV) e (IX) não são purificados e são envolvidos tal e qual nas etapas seguintes. Este processo não realiza nenhuma purificação por coluna cromatográfica ou de permuta iónica. Ele é aplicável a todos os sais reivindicados. A pureza do produto final mede-se por HPLC.

De maneira muito vantajosa, as condições operatórias minimizam a racemização.

#### **Novos compostos e novas composições de acordo com a invenção**

A invenção tem também por objecto um derivado ou sal de derivado de diamida do tripéptido KPV de fórmula (IA) seguinte:



na qual:

- a)  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$ , representam, independentemente um do outro,
- alquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
  - cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
  - polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
  - arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
  - aralquilo
  - ou  $R_1$  e  $R'_1$  podem formar com  $C(R''_1)$  um ciclo saturado de 3 a 7 átomos, eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados e/ou contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou N,
  - hidrogénio

com a condição do grupo  $R_1(R'_1)(R''_1)CO$  não representar um resíduo aminoácido ou um resto peptídico com pelo menos um dos  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$  diferente de hidrogénio;

b)  $R_2$  e  $R_3$  representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou representam

- alquilo  $C_1-C_{24}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado

- anel eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquila  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquila
- ou  $R_2$  e  $R_3$  podem formar com o átomo de azoto um ciclo saturado de 5 ou 6 átomos, e eventualmente substituído por um ou vários radicais alquila  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados, ciclo saturado contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou ainda um átomo de azoto suplementar,

com pelo menos um dos resíduos  $R_2$  e  $R_3$  diferentes de hidrogénio

com a condição do grupo  $N(R_2)$  ( $R_3$ ) não representar um aminoácido ou um resto peptídico.

De preferência, o sal ou derivado diamida do tripéptido KPV acima é escolhido entre os hidrocloreto, hidrobrometo, sulfato, acetato, citrato, tartrato, lactato, fosfato, hidrogenofosfato, propionato e succinato.

Preferencialmente, o sal de derivado diamida do tripéptido KPV acima caracteriza-se por os resíduos aminoácidos Lisina, Prolina ou Valina poderem ser qualquer um dos estereoisómeros de cada um destes resíduos.

A invenção é também relativa a composições contendo, num meio fisiologicamente aceitável, um derivado diamida do tripéptido KPV de fórmula (IA) tal como definido acima.

Segundo um primeiro modo de realização vantajoso, as composições acima caracterizam-se por o meio ser um meio

cosmético e por o derivado (IA) estar presente num teor de  $10^{-8}$  a  $10^{-3}$  g/100 g.

De acordo com um segundo modo de realização vantajoso, as composições acima caracterizam-se por o meio ser um meio farmacêutico e por o derivado (IA) estar presente num teor superior a  $5 \cdot 10^{-4}$  g/100 g.

A presente invenção refere-se também à utilização de um derivado (IA), tal como definido acima, numa composição cosmética ou para o fabrico de uma composição dermatológica para/ou destinada a tratar as peles secas e/ou as peles sensíveis.

A presente invenção é além disso ilustrada, sem no entanto ser limitada, pelo exemplo seguinte.

**EXEMPLO: Síntese do derivado diacetilado do tripéptido KPV, sob a forma de diferentes sais**

**I. Preparação de TosOH. H-Pro-OBzl (III):**

Num reactor inerte, agitável, termo-estável e equipado com um Dean-Starck, introduz-se a 20°C 50,22 g de ácido p-toluenossulfónico mono-hidrato (1,1 eq) e 140 ml de tolueno. Agita-se o meio até à dissolução e adiciona-se 74,5 ml de álcool benzílico (3 eq), depois 27,63 g de H-D-Pro-OH (240 mmoles). Leva-se a mistura ao refluxo 16 h sob vácuo de  $2,5 \times 10^{-6}$  a  $3 \times 10^{-6}$  Pa (250-300 mbar). Controla-se o fim da reacção por CCM. Concentra-se o meio reaccional sob vácuo até à secura.

Utiliza-se o produto assim obtido tal e qual sem purificação.

## **II. Preparação de Boc-D-Lys(Z)-D-Pro-OBzl (IV) :**

Retoma-se o resíduo da etapa precedente em 83 ml de DMF, adicionada de 87 g de Boc-D-Lys(Z)-OH (1 eq), depois 35 g de HOBT, 1 H<sub>2</sub>O (1 eq). Arrefece-se a mistura a 10°C e adiciona-se, mantendo a essa temperatura, 54,77 g de EDC (286 mmoles, 1,25 eq), depois 59 ml de etildi-isopropilamina (342,96 mmoles, 1,5 eq). Deixa-se então voltar a 20°C e agita-se de 2 a 20 h. Controla-se o fim da reacção por CCM.

Verte-se o meio reaccional sobre 110 ml de diclorometano e 220 ml de água, agita-se 15 minutos, decanta-se e volta-se a lavar a fase orgânica com 2x220 ml de solução aquosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. Voltam a extrair-se as fases aquosas em cascata com 83 ml de diclorometano. Reúnem-se as fases orgânicas, secam-se sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e ajustam-se a 460 ml (por concentração ou diluição).

Envolve-se esta solução de Boc-D-Lys(Z)-D-Pro-OBzl tal e qual no estágio seguinte.

## **III. Preparação de HCl, H-D-Lys(Z)-D-Pro-OBzl (IX) :**

Adicionam-se à solução precedente, arrefecida a 5°C sob injeção de gases inertes, 460 ml (17 vol) de HCl 4 N em dioxano (1828 mmoles, 8 eq). Depois de voltar à temperatura ambiente, a agitação prossegue 2 a 3 h.

Controla-se o fim da reacção por CCM.

Verte-se o meio reaccional, sob agitação, sobre uma mistura de 270 ml de água e 270 g de gelo. Decanta-se a mistura e utiliza-se a fase orgânica tal e qual no estágio seguinte.

#### **IV. Preparação de Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-OBzl (X) :**

Arrefece-se a solução clorometilénica de HCl, H-D-Lys(Z)-D-Pro-OBzl anteriormente obtida a 5°C, adiciona-se 135 ml de água, depois 32,3 ml de anidrido acético (1,5 eq). Adiciona-se em seguida Qsp pH 10 em 30 minutos a 1 h, NaOH aquoso 5 N (são necessários 90 a 130 ml).

Agita-se o meio à temperatura ambiente 2h30 a 3 h e controla-se o fim da reacção por CCM.

Decanta-se o meio, lava-se a fase orgânica com água, depois com uma solução aquosa saturada de NaCl (110 ml, 4 vol de cada vez). Seca-se a fase orgânica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentra-se sob vácuo [(40°C max.,  $5 \times 10^{-7}$  Pa (50 mbar) max.)].

Utiliza-se o resíduo tal e qual na etapa posterior.

#### **V. Preparação de Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-OH (XI) :**

Mistura-se o composto Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-OBzl obtido na etapa precedente (teoria: 230 mmoles) com 313 ml de metanol, adicionado de 313 ml de NaOH 1 N (313 mmoles, 1,36 eq) e agita-se uma noite à temperatura ambiente. Controla-se o fim da reacção por CCM.

Adiciona-se então éter di-isopropílico (313 ml, 11 vol), decanta-se o meio e re-extrai-se a fase aquosa três vezes com 3x150 ml de éter di-isopropílico. Verte-se então a fase aquosa sobre uma mistura de 540 ml de diclorometano e 70 ml de HCl a 4 N aquoso (1,2 eq). Agita-se a mistura 15 min e decanta-se. Lava-se a fase orgânica separada com água, depois com uma solução aquosa saturada de NaCl (110 ml, 4 vol de

cada vez). Seca-se a fase orgânica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e concentra-se sob vácuo [(40°C max.,  $5 \times 10^{-7}$  Pa (50 mbar) max.]. O produto assim obtido 94,25 g apresenta-se sob forma de uma espuma (rendimento 88% calculado em relação ao Boc-D-Lys(Z)-OH envolvido).

#### **VI. Preparação de Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub> (XII) :**

Num reactor inerte, termo-estável e munido de uma agitação mecânica, introduz-se 94,25 g de Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-OH (XI) (224,7 mmoles), depois 470 ml de DMF. Adiciona-se então 32,58 g de HCl, H-D-Val-NH<sub>2</sub> (V) (213,5 mmoles, 0,95 eq) e 85,22 g de HBTU (1 eq). Arrefece-se o meio a 5°C e adiciona-se gota a gota em 15 minutos 96,6 ml de etildi-isopropilamina (2,5 eq). Deixa-se voltar a 20°C e, após 1h30 a 2 h, observa-se uma cristalização abundante. Controla-se o fim da reacção por CCM. Verte-se então o meio reaccional sobre 2350 ml de AcOEt, agita-se 15 minutos, filtra-se e lava-se sucessivamente com 470 ml de AcOEt e 470 ml de éter di-isopropílico. Seca-se o derivado (XII) sob vácuo a 25°C. Obtém-se assim 107,2 g (92%) de Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub>.

#### **VI. Preparação de Ac-OH, Ac-D-Lys-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub> (I) :**

A última etapa consiste na hidrogenólise do grupo protector benziloxicarbonilo Z da lisina. O ácido utilizado no meio reaccional irá salificar a função amina libertada.

##### **1) Isolado sob forma de acetato:**

Dissolvem-se 107 g de Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub> em 535 ml de EtOH, adicionados de 214 ml de AcOH e de 21,4 g de Pd/C a 10%, a 50% de água. Conduz-se a hidrogenação a 20°C sob uma

pressão de hidrogénio de  $10^{-5}$  Pa (1 bar) durante 16 h. Controla-se o fim da reacção por CCM. Filtra-se o catalisador e concentra-se o filtrado sob vácuo até à secura. Retoma-se o resíduo em 107 ml de EtOH, adicionado de 430 ml de iPrOH e aquece-se a mistura a 50°C, depois adicionado a 50°C de 1500 ml de éter di-isopropílico adicionados gota a gota. O produto esperado cristaliza. Arrefece-se o meio a 20°C e agita-se 1 h. Filtra-se o sólido e lava-se com 500 ml de éter di-isopropílico antes de se secar sob vácuo a 25°C para fornecer 78,3 g de Ac-D-Lys-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub> sob forma de sal de acetato (Rendimento 85,4%). Controla-se a pureza do produto assim obtido por HPLC.

Se necessário, o produto é "recristalizado", com filtração 0,5  $\mu$ , nas mesmas condições para fornecer 71 g de AcOH, Ac-D-Lys-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub> (Rendimento de purificação 91%; rendimento global 74% em relação a Boc-D-Lys(Z)-OH).

## **2) Isolado sob forma de tartrato:**

Obtém-se o tartrato realizando a hidrogenólise do grupo benziloxicarbonil Z na presença de ácido tártrico. Os ácidos L e D-tártrico fornecem um sal comparável.

Colocam-se em suspensão 5 g de Ac-D-Lys(Z)-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub> em 25 ml de EtOH, adicionados de 1,48 g de ácido L(+)-tártrico (1,02 eq) e de 0,5 g de Pd/C a 10%, a 50% de água. Conduz-se a hidrogenação a 20°C sob uma pressão de hidrogénio de  $10^{-5}$  Pa (1 bar) durante 16 h.

Controla-se o fim da reacção por CCM. O produto cristalizou parcialmente no meio. Adiciona-se então 10 ml de água, filtra-se o catalisador e concentra-se o filtrado sob vácuo

até à secura. Retoma-se o resíduo em 40 ml de iPrOH aquecido a 50°C e adicionado a 50°C de 40 ml de etanol introduzidos gota a gota. O produto cristaliza. Arrefece-se o meio a 20°C e agita-se 1 h antes de ser adicionado de 40 ml de iPrOH e 50 ml de éter di-isopropílico. Filtra-se o sólido obtido e lava-se com 50 ml de éter di-isopropílico antes de se secar sob vácuo a 25°C para fornecer 4,12 g de tartrato Ac-D-Lys-D-Pro-D-Val-NH<sub>2</sub> (rendimento 80%). Controla-se o produto assim obtido por HPLC.

Se necessário, ele pode ser purificado como se segue.

Dissolve-se o produto obtido em 2 volumes de etanol e 1 volume de água, filtra-se e adiciona-se 4 volumes de isopropanol. Filtra-se a solução, depois adiciona-se 14 volumes de éter di-isopropílico filtrado. Após enxaguamento dos cristais formados e secagem a 20°C sob vácuo, obtém-se 90% de produto recristalizado e filtrado.

### **3) Isolado sob forma de succinato ou de citrato:**

O protocolo descrito com o ácido tártrico pode ser reproduzido com o ácido succínico ou o ácido cítrico.

Se necessário, o produto pode ser purificado, com filtração 0,5  $\mu$ , dissolvendo os sais respectivos em 2 volumes de etanol adicionados de um volume de água, filtração, depois adição de 4 volumes de isopropanol filtrados e de 14 volumes de éter di-isopropílico filtrados.

### **REFERÊNCIAS**

A. EBERLE, J.L. FAUCHERE, G.I. TESSER, R. SCHWYZER, *Helvetica Chimica Acta*, 1975, Vol 58, 2106.

SULI-VARGHA H., JENEY A., LAPIS K., MEDZIHRADESKY K., *J. Med. Chem.*, 1987, 30(3), 583-6.

SULI-VARGHA H., MEDZIHRADESKY K., *Int. J. Pept. Protein Res.*, 1984, 23(6), 650-6.

YASUTAKE A., POWERS J., *Biochemistry*, 1981, 20(13), 3675-9.

R. SCHWYZER, A. COSTOPANAGIOTIS, P. SIEBER, *Helv. Chim. Acta*, 1963, 46, 870-889.

K. HOFMANN, M. WOOLNER, H. YAJIMA, G. SPUHLER, T. THOMPSON, E. SCHWARTZ, *J. Am. Chem. Soc.*, 1958, 80, 6458.

K. HOFMANN, T. THOMPSON, M. WOOLNER, G. SPUHLER, H. YAJIMA, J. CIPERA, E. SCHWARTZ, *J. Am. Chem. Soc.*, 1960, 3721.

STAPLES D., SAWYER T., MAC HADLEY E., ENGEL M., DEVAUX A., AFFHOLTER J., DARMAN P., CODY W., WILKES B., HRUBY, V., *Pept. Struct. Funct., Proc. Am. Pept. Symp.*, 9° (1985), 691-4.

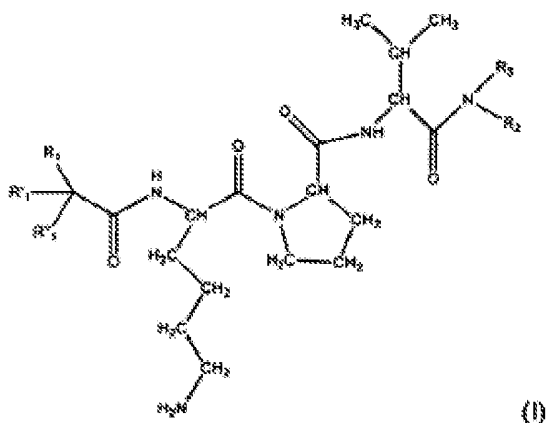
T. SAWYER, V. HRUBY, B. WILKES, M. DRAELOS, E. MAC HADLEY, M. BERGSNEIDER, *J. Med. Chem.*, 1982, 25, 1022-1027.

T. SAWYER, Tese, Universidade do Arizona, 1981.

25-10-2006

## REIVINDICAÇÕES

1. Processo de síntese em solução de um derivado diamida do tripéptido KPV de fórmula (I) seguinte ou de um sal do composto de fórmula (I):



independentemente da estereoquímica dos aminoácidos utilizados na qual:

a)  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$ , representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou

- alquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_1$  e  $R'_1$  podem formar com  $C(R''_1)$  um ciclo saturado de 3 a 7 átomos, eventualmente substituído por um ou

vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados e/ou contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou N,

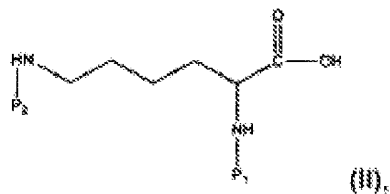
com a condição do grupo  $R_1(R'_1)(R''_1)CO$  não representar um resíduo aminoácido ou um resto peptídico;

b)  $R_2$  e  $R_3$  representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou representam

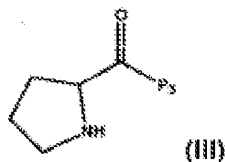
- alquilo  $C_1-C_{24}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_2$  e  $R_3$  podem formar com o átomo de azoto um ciclo saturado de 5 ou 6 átomos, e eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados, ciclo saturado contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou ainda um átomo de azoto suplementar, com a condição do grupo  $N(R_2)(R_3)$  não representar um aminoácido ou um resto peptídico;

sendo o referido processo caracterizado por compreender as seguintes etapas:

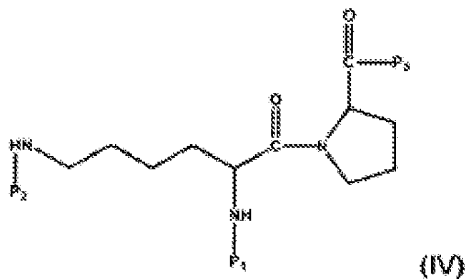
a) reacção de um resíduo de lisina diprotectado de fórmula (II) seguinte:



eventualmente salificado por uma base mineral ou orgânica,  
na qual  $P_1$  e  $P_2$ , diferentes um do outro, representam cada um  
independentemente do outro um grupo protector,  
com um resíduo de Prolina de fórmula (III) seguinte:



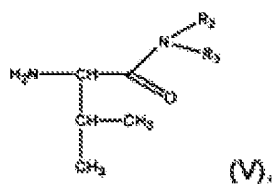
eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico,  
na qual  $P_3$  representa cada um grupo protector diferente de um  
qualquer dos grupos protectores  $P_1$  e  $P_2$ , ou na qual  $P_3$   
representa um grupo hidroxilo,  
em presença de um reagente de activação ou de um reagente de  
acoplamento num solvente, a fim de obter o composto de  
fórmula (IV) seguinte:



na qual  $P_1$ ,  $P_2$  e  $P_3$  têm as significações acima.

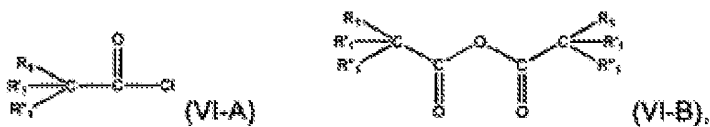
b)

1) acoplamento, sobre a função C-terminal do resíduo Prolina do composto de fórmula (IV) no qual  $P_3$  representa OH, de um composto de valina de fórmula (V) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico

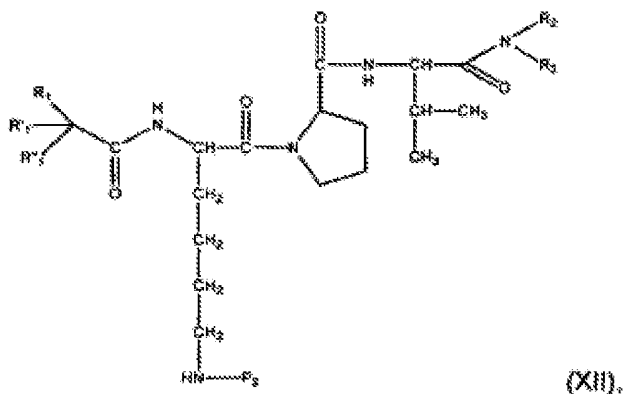


na qual  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima, eliminação do grupo protector  $P_1$ ,

2) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  em posição N-terminal do resíduo lisina por um composto de fórmula (VI-A) ou (VI-B) seguinte:



a fim de obter o composto de fórmula (XII) seguinte:



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima;

sendo a ordem das etapas 1) e 2) indiferente;

c) Eliminar o grupo protector  $P_2$  do composto de fórmula (XII) a fim de obter o composto de fórmula (I), eventualmente sob a forma de um sal mineral ou orgânico.

2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por o sal ser escolhido entre os hidrocloreto, hidrobrometo, sulfato, acetato, citrato, tartrato, lactato, fosfato, hidrogenofosfato, propionato e succinato.

3. Processo de acordo com a reivindicação 1 ou 2, caracterizado por os resíduos de aminoácidos Lisina, Prolina ou Valina poderem ser qualquer um dos estereoisómeros de cada um desses resíduos.

4. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 3, caracterizado por o sal ser obtido no decurso da etapa c) por introdução do ácido correspondente.

5. Processo de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por o ácido ser o ácido acético ou clorídrico ou bromídrico ou sulfúrico ou cítrico ou tártrico ou láctico ou fosfórico ou hidrogenofosfórico ou propiónico ou succínico.

6. Processo de acordo com a reivindicação 5, caracterizado por o ácido ser o ácido acético ou clorídrico.

7. Processo de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, caracterizado por os grupos protectores  $P_1$  e  $P_2$  representarem, independentemente um do outro, Adoc (= 1-adamantiloxicarbonilo), BOC (= t-butiloxicarbonilo), 2-bromo-Z (= 2-bromobenziloxicarbonilo), ou 2-cloro-Z (= 2-

clorobenziloxicarbonilo), ou Fmoc (= 9-fluorenilmetoxicarbonilo) ou Formilo ou Nicotinoílo ou 4-nitro-Z (= 4-nitrobenziloxicarbonilo) ou Tfa (= trifluoroacetilo) ou Tos (= p-toluenossulfonilo) ou Z (= benziloxicarbonilo) ou Adpoc (= 1-(adamantil)-1-metiletoxicarbonilo).

8. Processo de acordo com a reivindicação 7, caracterizado por os grupos protectores  $P_1$  e  $P_2$  serem escolhidos de maneira a serem eliminados respectivamente em condições operatórias distintas

9. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por o composto de fórmula (II) ser salificado por uma base orgânica, preferencialmente uma amina orgânica.

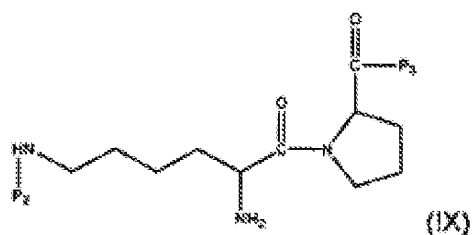
10. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por o composto de fórmula (III) ser salificado por um ácido mineral ou orgânico.

11. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por na etapa a), a reacção de acoplamento ser realizada em presença de um reagente de acoplamento ou de activação escolhido entre as carbodi-imidas tais como a DCC (= diciclo-hexilcarbodi-imida) ou as formas hidrossolúveis de carbodi-imidas tais como a EDC (= hidrocloreto de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodi-imida), sais de fosfónio como o BOP (= hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi) tris(dimetilamino)fosfónio), o PyBOP (= hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi) tripirrolidino)fosfónio), o PyBROP (= hexafluorofosfato de bromotripirrolidino)fosfónio), o PyCloP (= hexafluorofosfato

de clorotripirrolidinofosfônio), ou ainda com o auxílio de reagentes tais como o PyClU (=hexafluorofosfato de cloro-N,N,N',N'-bis(tetrametileno)formamidínio) a N-hidroxisuccinamida, a EEDQ (= 1-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquinolina), o CDI (= carbonildi-imidazol) ou ainda os cloroformiatos tais como o cloroformiato de etilo ou o cloroformiato de isobutilo.

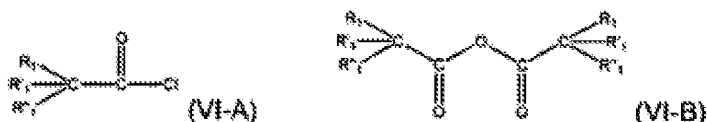
12. Processo de acordo com uma qualquer das reivindicações precedentes, caracterizado por a etapa b) compreender as etapas seguintes:

b1) Eliminação do grupo protector  $P_1$  do composto de fórmula (IV), na qual  $P_3$  representa um grupo protector, de maneira a obter o composto de fórmula (IX):



na qual  $P_1$  tem a mesma significação que na reivindicação 1 e  $P_3$  representa um grupo protector;

b2) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  do resíduo lisina do composto de fórmula (IX) com o composto de fórmula (VI-A) ou o composto de fórmula (VI-B) seguinte:



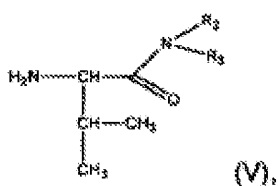
a fim de obter o composto de fórmula (X) seguinte:



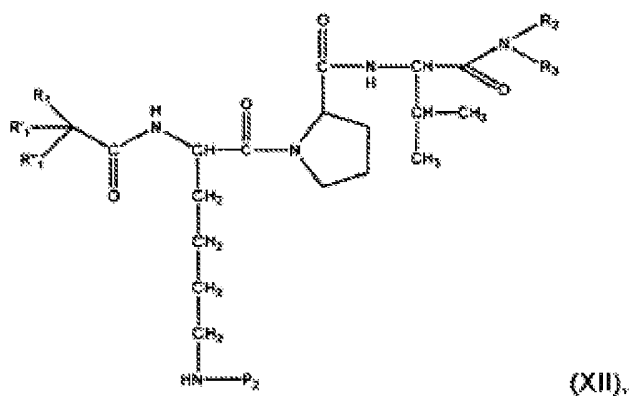
b3) Eliminação do grupo protector  $P_3$  do composto de fórmula (X) a fim de obter o composto de fórmula (XI):



b4) Acoplar o composto de fórmula (XI) com o composto de valina de fórmula (V) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:



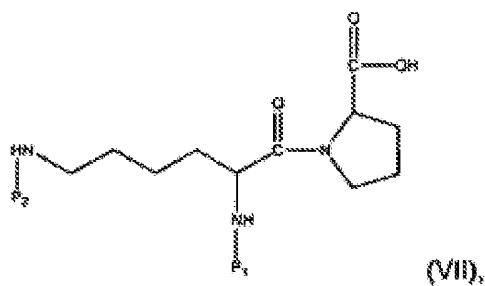
na qual  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima, a fim de obter o composto de fórmula (XII):



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima.

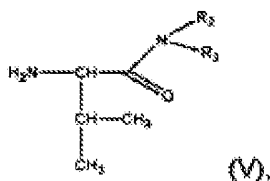
13. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado por a etapa b) compreender as etapas seguintes:

b5) Eliminar o grupo  $P_3$  do composto de fórmula (IV), na qual o grupo  $P_3$  representa um grupo protector, a fim de obter o composto de fórmula (VII) seguinte:

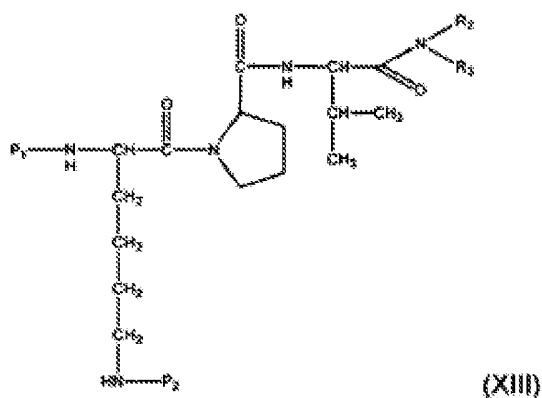


na qual  $P_1$  e  $P_2$  tem a mesma significação que na reivindicação 2;

b6) acoplamento do composto de fórmula (VII) com o composto de valina de fórmula (V), eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:

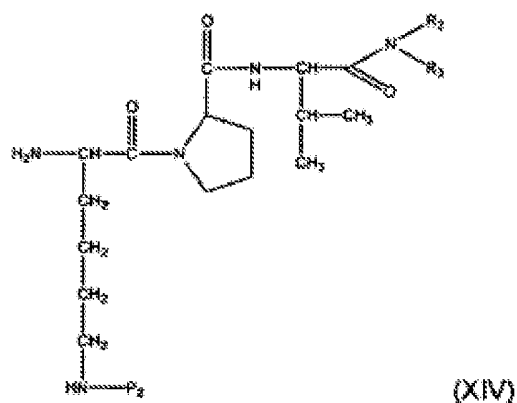


na qual  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que na reivindicação 1, a fim de obter o composto de fórmula (XIII):



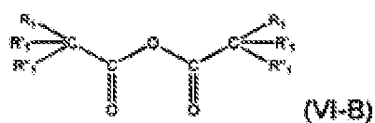
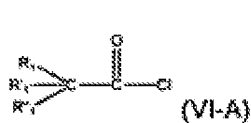
na qual  $P_1$ ,  $P_2$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima;

b7) Eliminar o grupo protector  $P_1$  do composto de fórmula (XIII) a fim de obter o composto de fórmula (XIV) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:



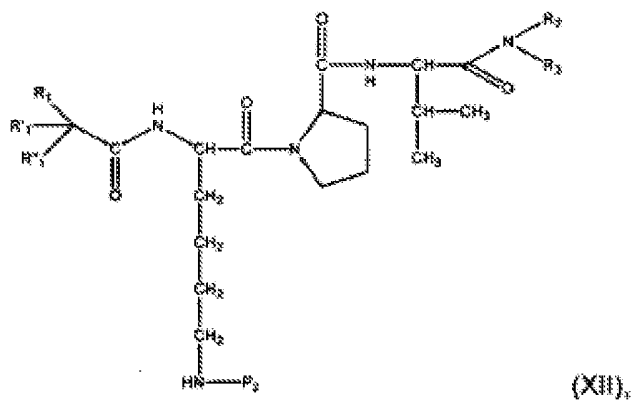
na qual  $P_2$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima;

b8) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  do resíduo lisina do composto de fórmula (XIV) com o composto de fórmula (VI-A) ou o composto de fórmula (VI-B) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:



nas quais  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  têm as mesmas significações que na reivindicação 1,

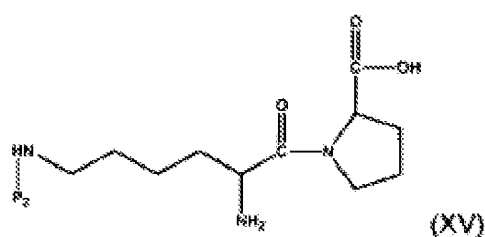
a fim de obter o composto de fórmula (XII) seguinte:



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima.

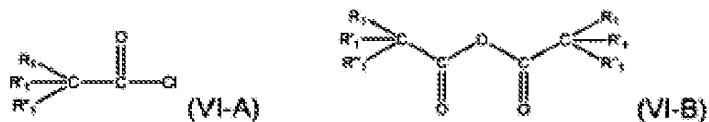
14. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 11, caracterizado por a etapa b) compreender as etapas seguintes:

b9) Eliminar o grupo protector  $P_1$  do composto de fórmula (VII), no qual  $P_3$  representa um grupo hidroxilo, a fim de obter o composto de fórmula (XV) seguinte:



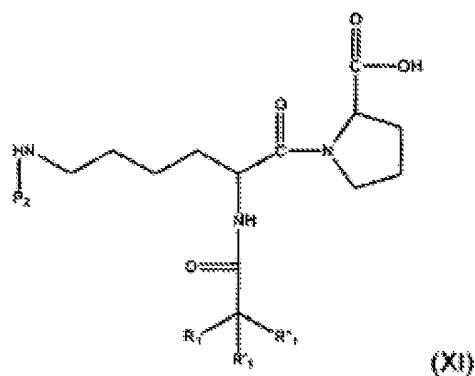
na qual  $P_2$  tem a mesma significação que na reivindicação 2;

b10) amidificação do grupo  $NH_2(\alpha)$  do resíduo lisina do composto de fórmula (XV) com o composto de fórmula (VI-A) ou o composto de fórmula (VI-B) seguinte:



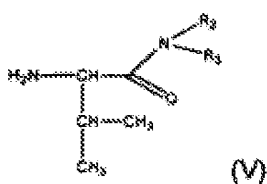
nas quais  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  têm as mesmas significações que na reivindicação 1,

a fim de obter o composto de fórmula (XI) seguinte, eventualmente salificado por uma base orgânica ou mineral:



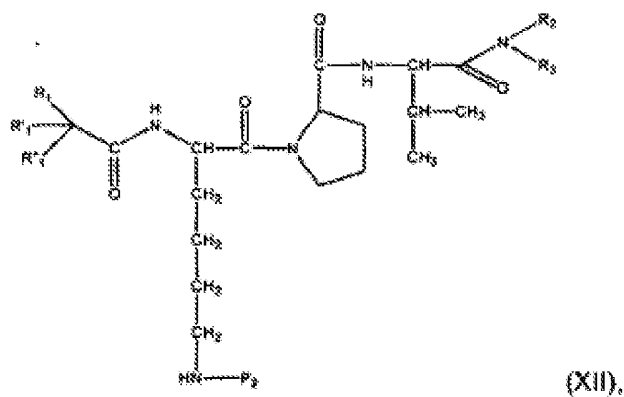
na qual  $\text{P}_2$ ,  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}'_1$  e  $\text{R}''_1$  têm a mesma significação que acima;

b11) acoplamento do composto de fórmula (XI) com o composto de valina de fórmula (V) seguinte, eventualmente salificado por um ácido mineral ou orgânico:



na qual  $\text{R}_2$  e  $\text{R}_3$  têm a mesma significação que na reivindicação 1,

a fim de obter o composto de fórmula (XII):



na qual  $P_2$ ,  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$  têm a mesma significação que acima.

15. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado por no composto de fórmula (II), o grupo protector  $P_1$  ser o t-butiloxocarbonilo (BOC) e o grupo protector  $P_2$  ser o benziloxycarbonilo (Z).

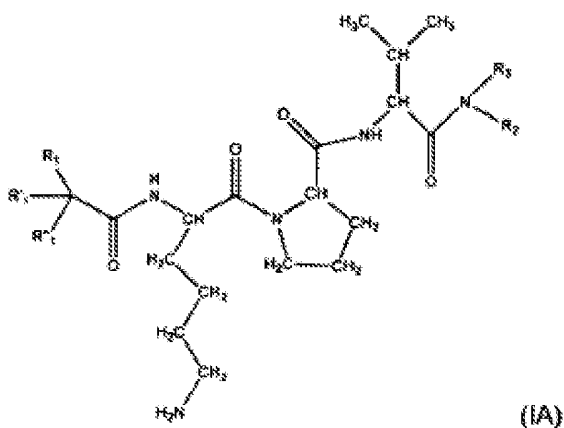
16. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 15, caracterizado por no composto de fórmula (III), o grupo protector  $P_3$  ser o grupo éster benzílico OBzl.

17. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 16, caracterizado por no composto de fórmula (I), os grupos  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$  representarem cada um, um átomo de hidrogénio.

18. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado por no composto de fórmula (I), os grupos  $R_2$  e  $R_3$  representarem cada um, um átomo de hidrogénio.

19. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 a 14, caracterizado o grupo protector  $P_1$  ser o t-butiloxocarbonilo (BOC), o grupo protector  $P_2$  ser o benziloxycarbonilo (Z) e o grupo protector  $P_3$  ser o éster benzílico OBzl.

20. Derivado ou sal de derivado diamida do tripéptido KPV de fórmula (IA) seguinte:



na qual:

- a)  $R_1$ ,  $R'_1$  e  $R''_1$ , representam, independentemente um do outro,
  - alquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
  - cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
  - polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
  - arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
  - aralquilo
  - ou  $R_1$  e  $R'_1$  podem formar com  $C(R''_1)$  um ciclo saturado de 3 a 7 átomos, eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados e/ou contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou N,
  - hidrogénio

com a condição do grupo  $R_1(R'_1)(R''_1)CO$  não representar um resíduo aminoácido ou um resto peptídico com pelo menos um dos  $R_1$ ,  $R'_1$ ,  $R''_1$  diferente de hidrogénio;

b)  $R_2$  e  $R_3$  representam, independentemente um do outro, um átomo de hidrogénio ou representam

- alquilo  $C_1-C_{24}$ , linear ou ramificado, eventualmente interrompido por um heteroátomo tal como O ou N ou S ou Si
- cicloalquilo  $C_4-C_{10}$
- polifluoroalquilo ou perfluoroalquilo  $C_1-C_{22}$ , linear ou ramificado
- arilo eventualmente substituído por um ou vários átomos de halogéneo tais como Cl, F, Br ou I ou, um ou vários grupos alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados
- aralquilo
- ou  $R_2$  e  $R_3$  podem formar com o átomo de azoto um ciclo saturado de 5 ou 6 átomos, e eventualmente substituído por um ou vários radicais alquilo  $C_1-C_4$ , lineares ou ramificados, ciclo saturado contendo eventualmente um heteroátomo tal como O, S ou ainda um átomo de azoto suplementar,

com pelo menos um dos resíduos  $R_2$  e  $R_3$  diferentes de hidrogénio

com a condição do grupo  $N(R_2)(R_3)$  não representar um aminoácido ou um resto peptídico.

21. Sal de derivado diamida do tripéptido KPV de acordo com a reivindicação 20, caracterizado por o sal ser escolhido entre os hidrocloreto, hidrobrometo, sulfato, acetato,

citratos, tartratos, lactatos, fosfatos, hidrogenofosfatos, propionatos e succinatos.

22. Derivado ou sal de derivado diamida do tripéptido KPV de acordo com a reivindicação 20 ou 21, caracterizado por os resíduos de aminoácidos Lisina, Prolina ou Valina poderem ser qualquer um dos estereoisómeros de cada um desses resíduos.

23. Composições contendo num meio fisiologicamente aceitável um derivado (IA) de acordo com uma qualquer das reivindicações 20 a 22.

24. Composições de acordo com a reivindicação 23, caracterizadas por o meio ser um meio cosmético e por o derivado (IA) estar presente num teor de  $10^{-8}$  a  $10^{-3}$  g/100 g.

25. Composição de acordo com a reivindicação 23, caracterizada por o meio ser um meio farmacêutico e por o derivado (IA) estar presente num teor superior a  $4 \cdot 10^{-4}$  g/100 g.

26. Utilização de um derivado (IA) de acordo com uma qualquer das reivindicações 20 a 22 numa composição cosmética ou para o fabrico de uma composição dermatológica para/ou destinada a tratar as peles secas e/ou as peles sensíveis.

25-10-2006

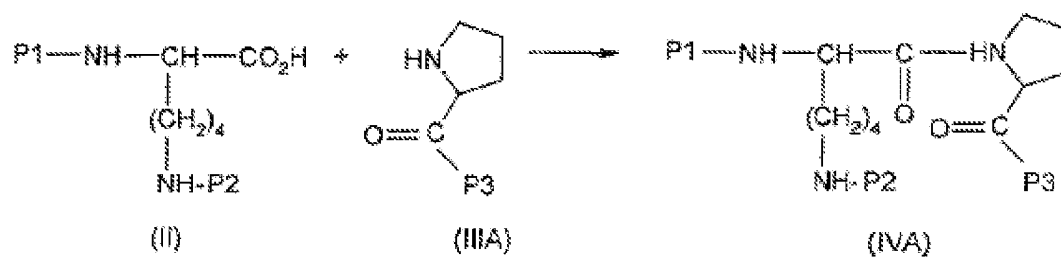


FIGURA 1A

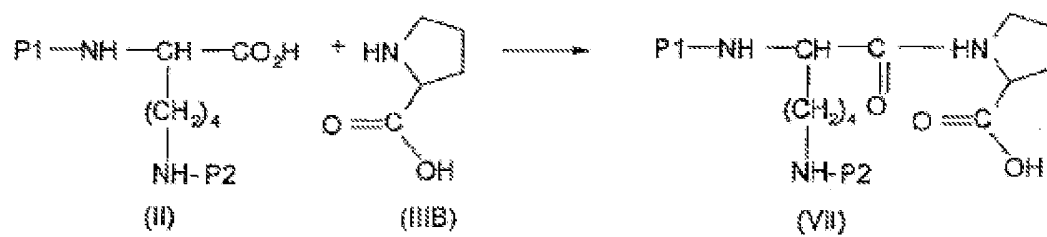


FIGURA 1B

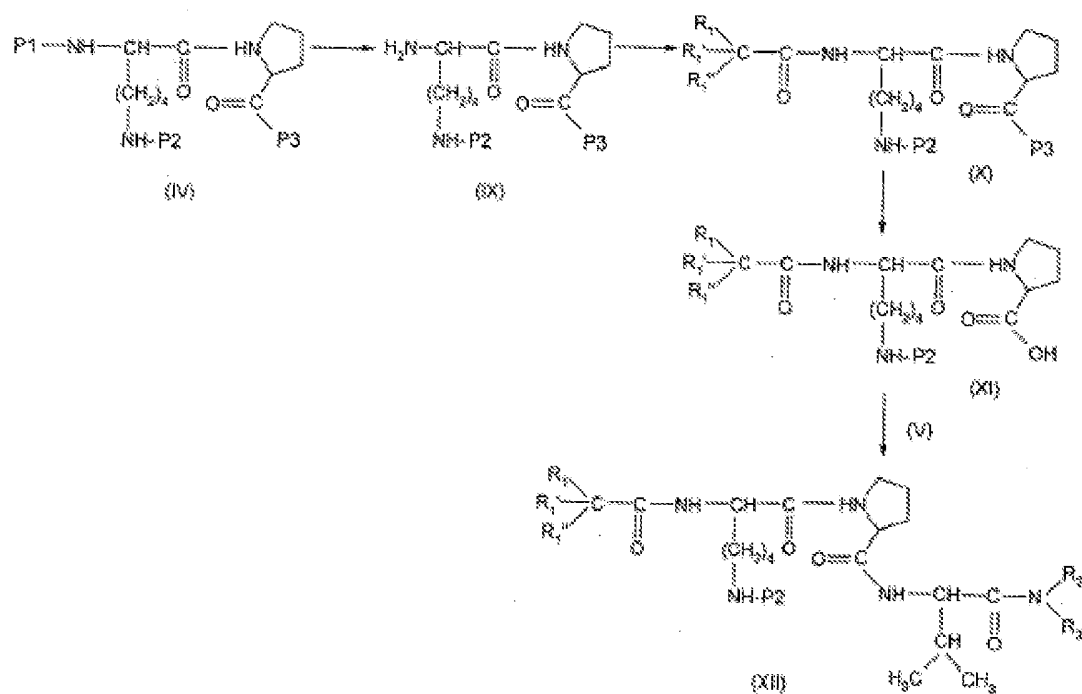


FIGURA 2

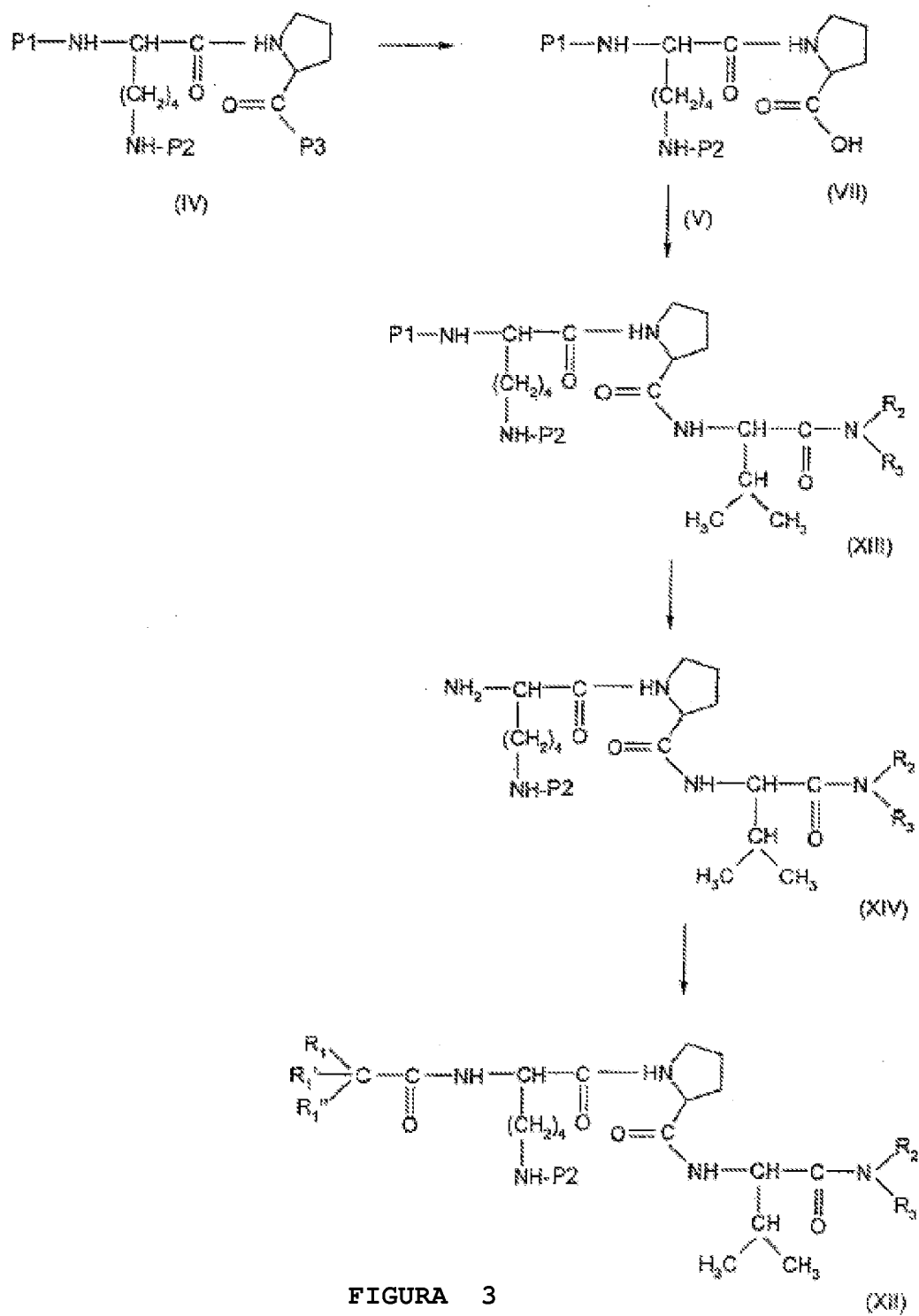


FIGURA 3

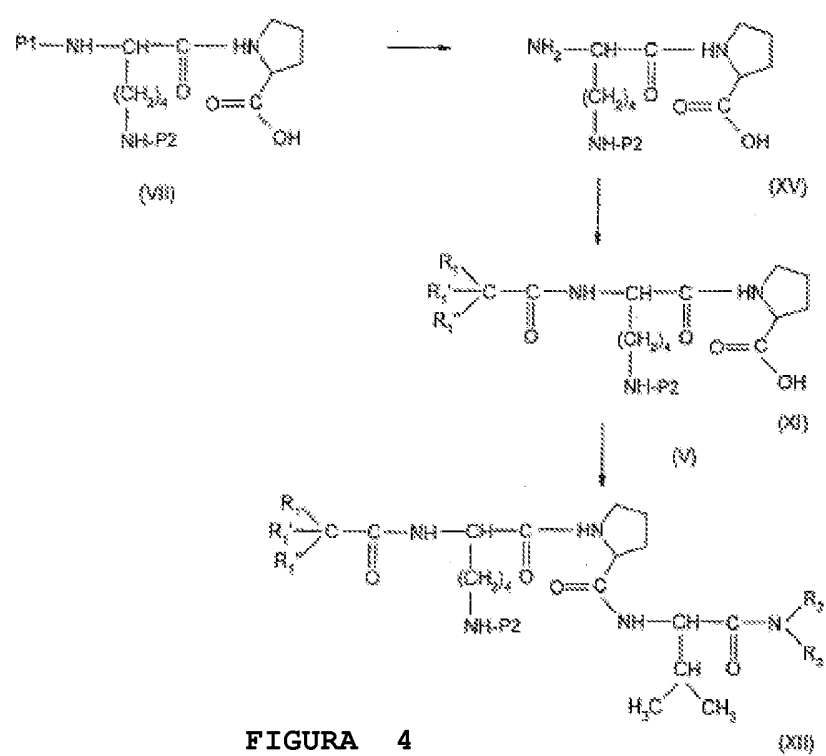


FIGURA 4

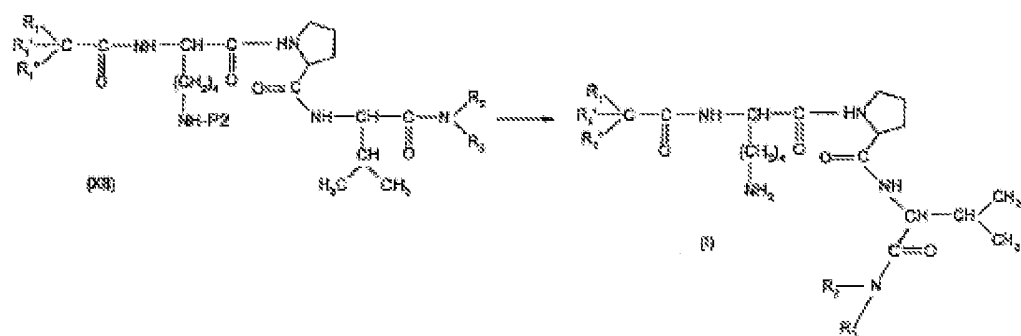


FIGURA 5

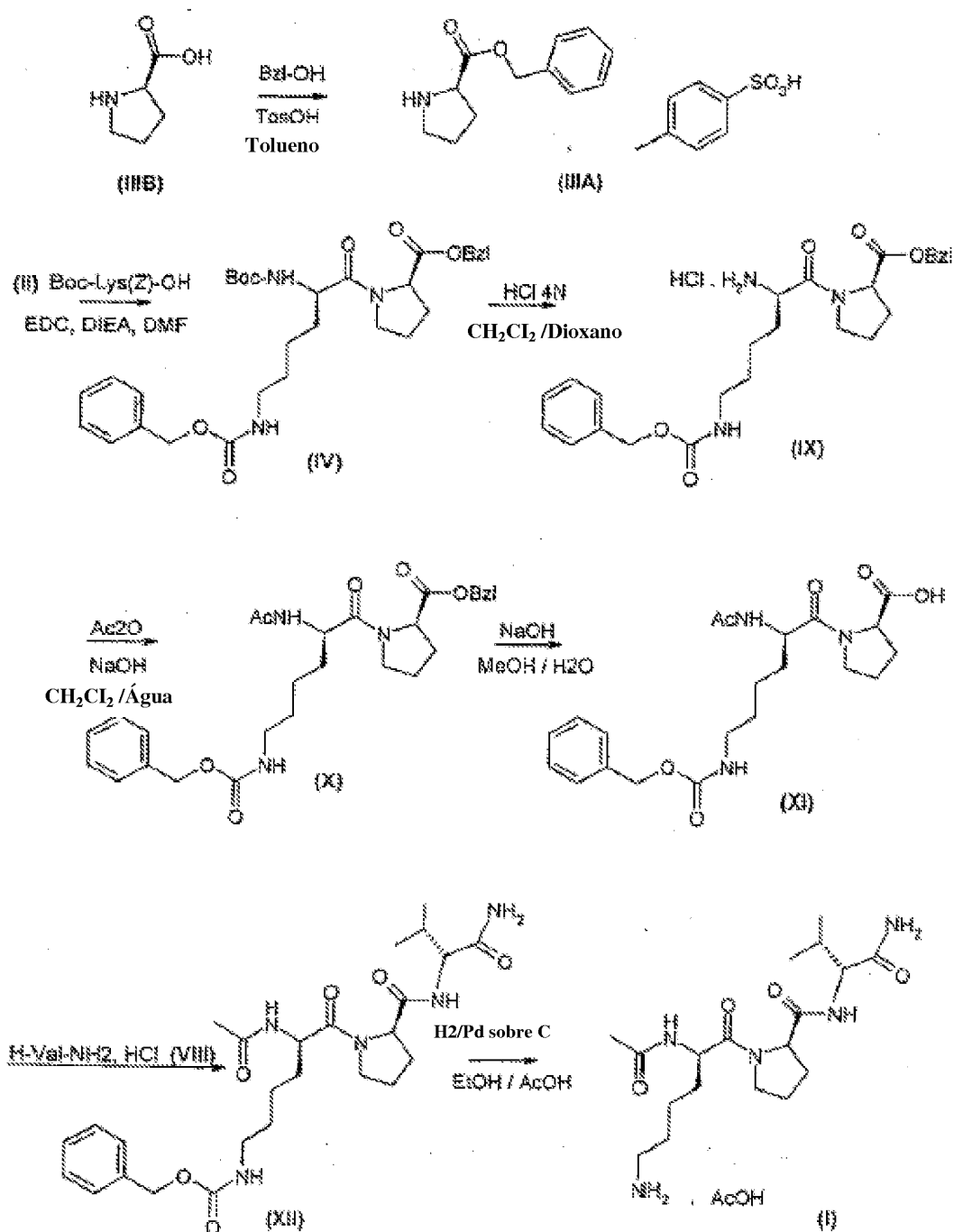


FIGURA 6