



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 304 128**

51 Int. Cl.:
C07K 14/68 (2006.01)
C07K 5/107 (2006.01)
A61K 38/07 (2006.01)
A61K 38/34 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01923703 .1**
86 Fecha de presentación : **27.03.2001**
87 Número de publicación de la solicitud: **1272516**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **08.01.2003**

54 Título: **Péptidos lineales selectivos con actividad agonista de receptor de melanocortina-4 (MC4-R).**

30 Prioridad: **04.04.2000 US 194450 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.09.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.09.2008

73 Titular/es: **F. Hoffmann-La Roche AG.**
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es: **Chen, Li;**
Cheung, Adrian, Wai-Hing;
Chu, Xin-Jie;
Danho, Waleed;
Swistok, Joseph y
Yagaloff, Keith, Alan

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 304 128 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Péptidos lineales selectivos con actividad agonista de receptor de melanocortina-4 (MC4-R).

5 Antecedentes de la invención

La obesidad es ampliamente reconocida como un serio problema de salud para los países desarrollados, y ha alcanzado la condición de epidemia en los Estados Unidos. Se considera que más del 50% de la población de los Estados Unidos tiene sobrepeso, con > 25% con un diagnóstico de obesidad clínica y con considerable riesgo de enfermedades cardíacas, diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM), hipertensión y ciertos cánceres. Esta epidemia representa una significativa carga sobre el sistema de cuidado de la salud, ya que se esperan costos de tratamiento de obesidad proyectados de más de 70 mil millones al año, sólo en los Estados Unidos. Las estrategias para el tratamiento de la obesidad incluyen la reducción de la ingestión de alimentos, o el aumento del gasto de energía.

Se ha demostrado que, cuando se inyecta en el tercer ventrículo del cerebro o de manera intraperitoneal, un análogo de heptapéptido cíclico de hormona estimulante de α -melanocito (α MSH) que tiene actividad agonista de receptor de melanocortina-4 (MCR-4), se produce una inhibición duradera de la ingestión de alimentos en ratones. Este efecto fue reversible cuando se administró junto con un antagonista de MC4-R (Fan y otros, Nature (1997) 385: 165-168). Por lo tanto, los agonistas de la actividad de NC4-R deberían ser útiles en el tratamiento o prevención de la obesidad.

Existen cinco receptores de melanocortina conocidos, en base a la homología de secuencia que varía desde 35-60% de homología entre miembros de la familia (Cone y otros, Rec. Prog. Hormone Res. (1996) 51:287-318), pero estos receptores difieren en sus funciones. Por ejemplo, el MC1-R es un receptor acoplado a proteína G que regula la pigmentación en respuesta a la α MSH, que es un potente agonista de MC1-R (Cone y otros, *ibid.*). El agonismo del receptor MC1-R produce la estimulación de los melanocitos, lo que causa eumelanina e incrementa el riesgo de cáncer de piel. El agonismo de MC1-R también puede tener efectos neurológicos. La estimulación de la actividad de MC2-R puede dar como resultado un carcinoma del tejido adrenal. Los efectos del agonismo del MC3-R y el MC5-R aún no se conocen. Todos los receptores de melanocortina responden a la clase de hormonas peptídicas de hormonas estimulantes de melanocitos (MSH). Estos péptidos derivan de proopiomelanocortina (POMC), una prohormona de 131 aminoácidos que es procesada en tres clases de hormonas; las melanocortinas (α , β y γ), hormona adrenocorticotropina (ACTH) y varias endorfinas (por ejemplo, lipotropona) (Cone y otros, *ibid.*). Debido a sus diferentes funciones, el agonismo simultáneo de las actividades de múltiples receptores de melanocortina tiene el potencial de causar efectos colaterales indeseados. Por lo tanto, es deseable que un agonista de MC4-R sea más selectivo para el MC4-R que para uno o más de los otros receptores de melanocortina.

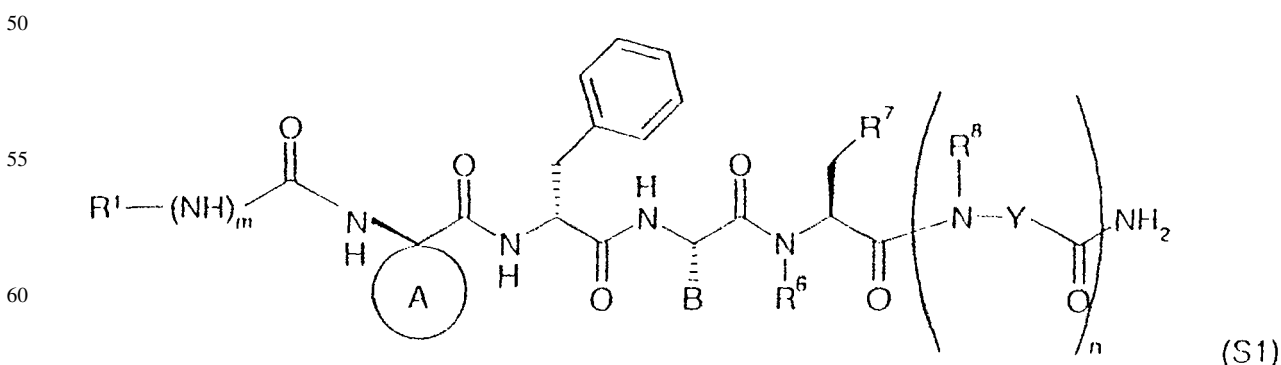
Haskell-Luevano y otros (Peptides (1996) 17(6); 995-1002) describen péptidos que contienen el tripéptido (D)Phe-Arg-Trp, y exhiben actividad melanotrópica (oscurecimiento de la piel) en el bioensayo de piel de rana (*Rana pipiens*). Haskell-Luevano y otros (*ibid.*) no describen ningún compuesto de fórmula I, II o III descritos a continuación.

María A. Bednarek *et al.* (Biochemical and Biophysical Research Communications 261, 209-213 (1999) describe análogos de MTII, derivados de lactama de α -melanotropina, que es agonista del melanocortin-4-receptor humano.

Roger A. H. adan *et al.* (European Journal of Pharmacology 378 (1999) 249-258 describe ligandos receptores de melanocortina que son agonistas receptores de melanocortina MC₄.

45 Sumario de la invención

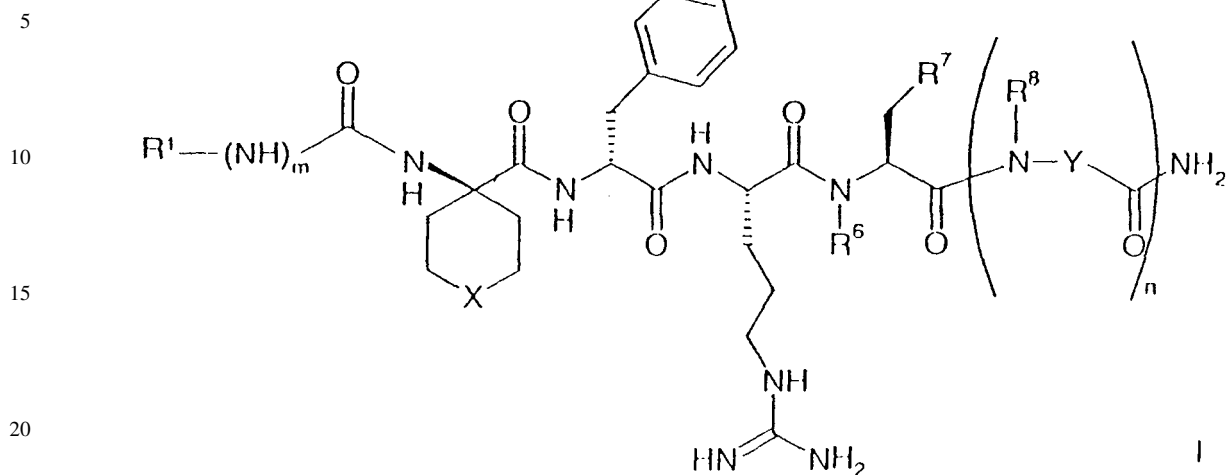
Esta invención se relaciona con compuestos que comprenden la siguiente estructura (S1):



65 en donde R¹, R⁶, R⁷, R⁸, m, n, A y B son como se definen en a) a d), y en donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste de

ES 2 304 128 T3

a) un compuesto de la fórmula:



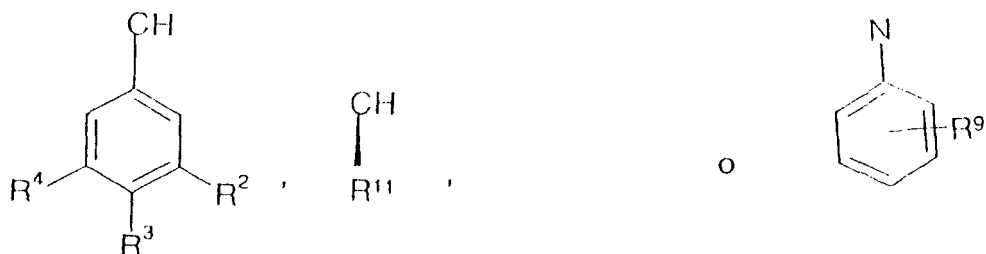
en donde

m es 0 ó 1;

n es 0 ó 1;

R¹ es un alquilo lineal o ramificado insustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo no sustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

X es



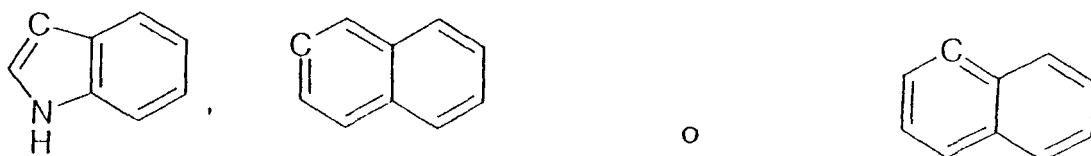
en donde R², R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno o un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono, en donde cuando R³ es alcoxi, R² y R⁴ son ambos hidrógeno;

R⁹ es hidrógeno, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o fenoxi no sustituido;

R¹¹ es ciclohexilo, cicloheptilo o un alquilo ramificado que tiene desde 3 a 8 átomos de carbono;

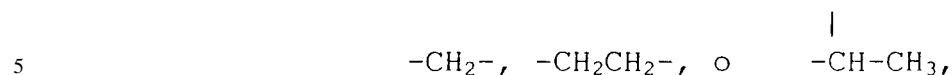
R⁶ es hidrógeno o metilo;

R⁷ es



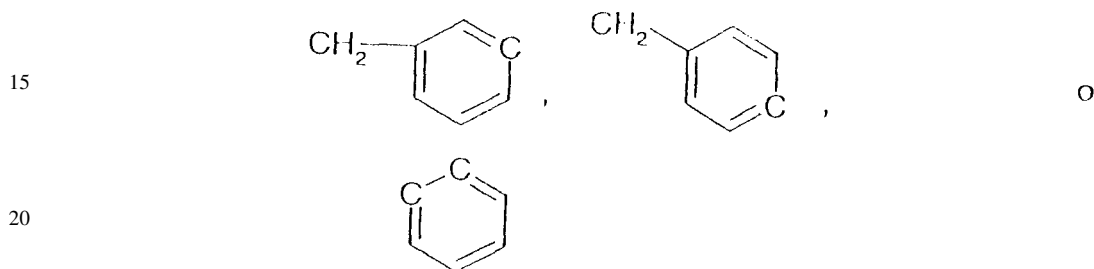
ES 2 304 128 T3

Y es



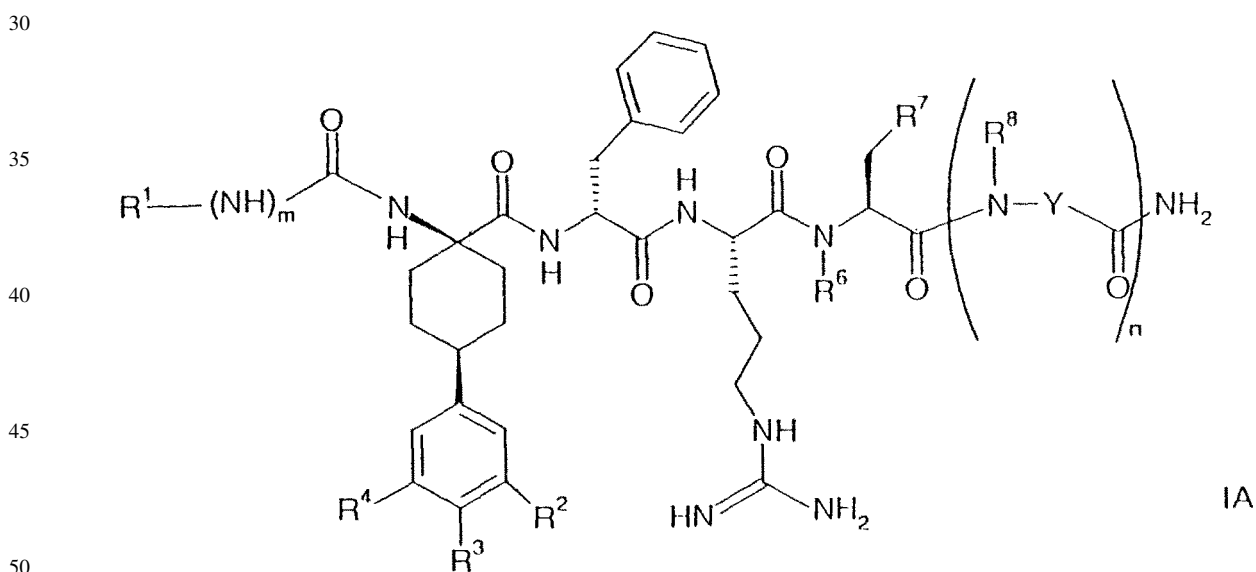
y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

10 Y es



25 Y R⁸ es hidrógeno;

b) un compuesto de la fórmula:



en donde

55 m es 0 ó 1;

n es 0 ó 1;

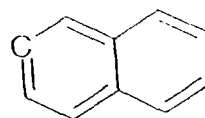
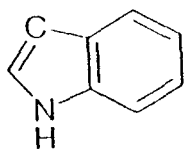
60 R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo no sustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

65 R², R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno, un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono; hidroxilo, un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono; o cloro, en donde cuando R³ es alquilo, hidroxilo, alcoxi o cloro, R² y R⁴ son ambos hidrógeno;

R⁶ es hidrógeno o metilo;

R⁷ es

5

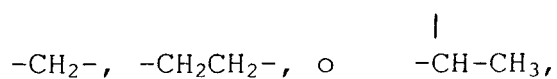


10

o

Y es

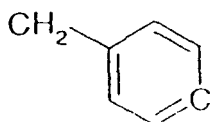
15



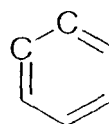
20 y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

Y es

25



o

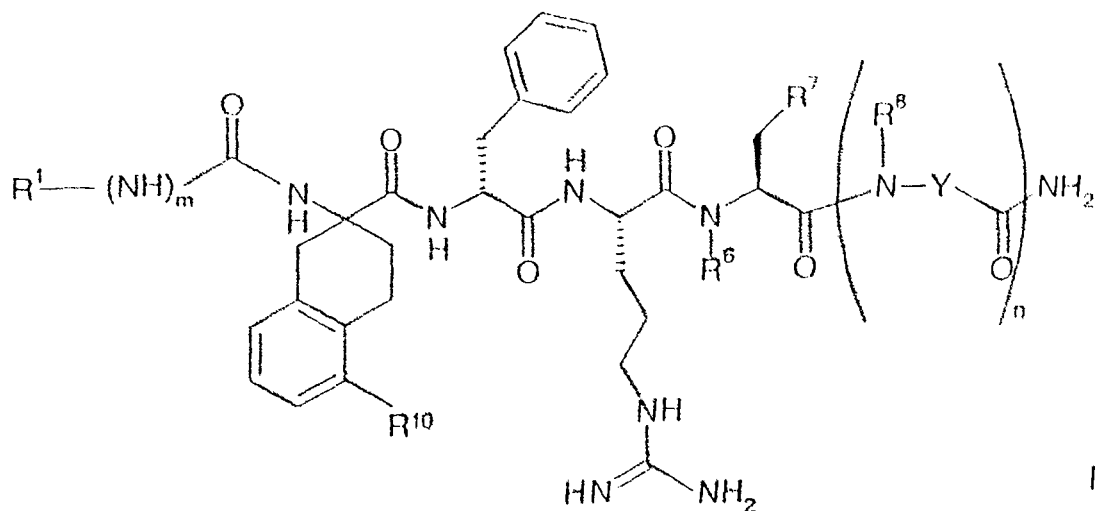


30

Y R⁸ es hidrógeno;

35 c) un compuesto de la fórmula:

40



II

60

en donde

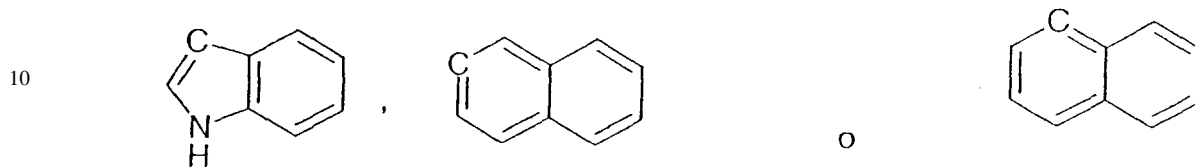
m es 0 ó 1;

65 n es 0 ó 1;

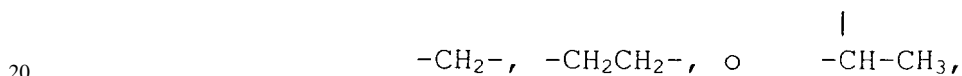
ES 2 304 128 T3

R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; o fenilo insustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

5 R⁷ es

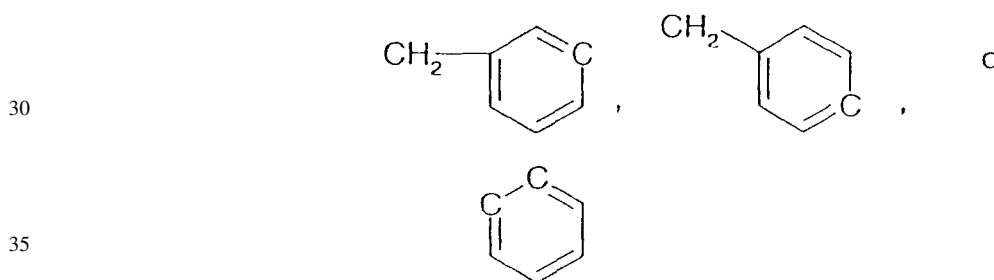


15 Y es



y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

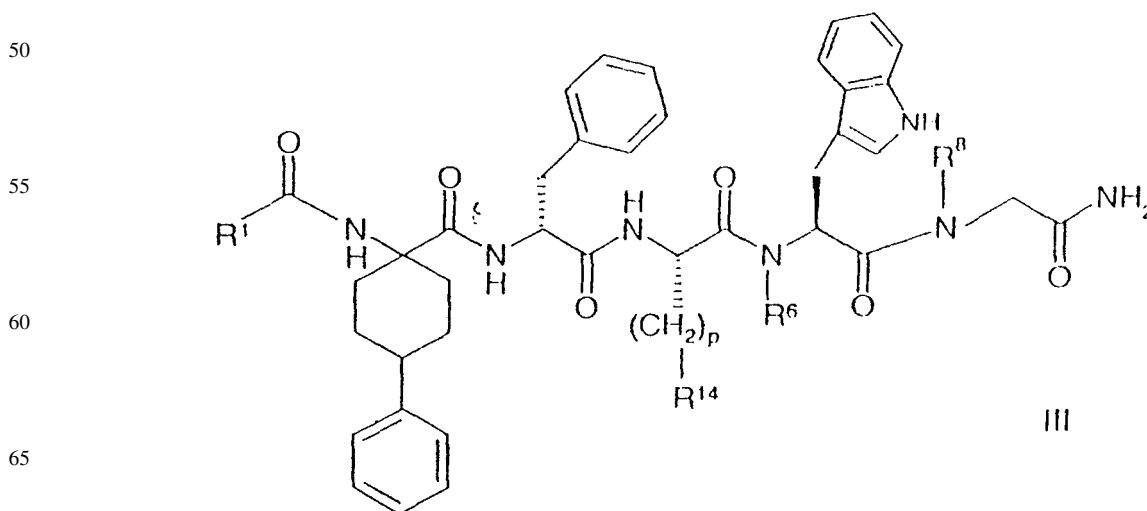
25 Y es



y R⁸ es hidrógeno;

40 R¹⁰ es hidrógeno, halo, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, o -NR¹²R¹³ en donde R¹² y R¹³ son cada uno independientemente un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o juntos son -(CH₂)_q- en donde q es 3, 4 ó 5; y

45 d) un compuesto de la fórmula:



ES 2 304 128 T3

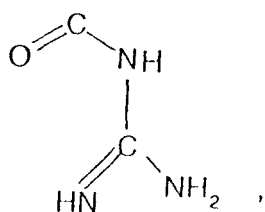
en donde

R¹ es alquilo lineal o ramificado insustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono;

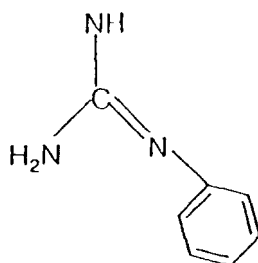
5 R⁶ es hidrógeno o metilo;

R⁸ es hidrógeno o metilo:

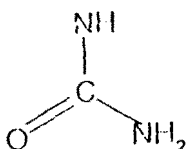
10 p es 2, 3 ó 4 y R¹⁴ es



o p es 4 y R¹⁴ es



35 o p es 3 y R¹⁴ es



o

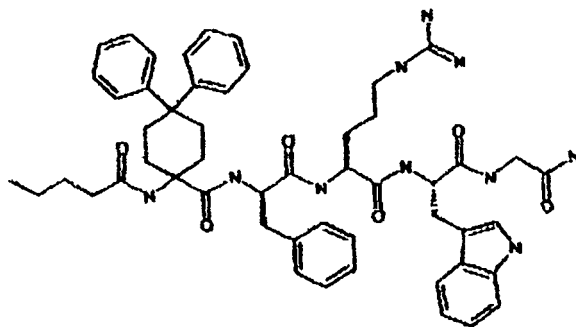
e)

50

55

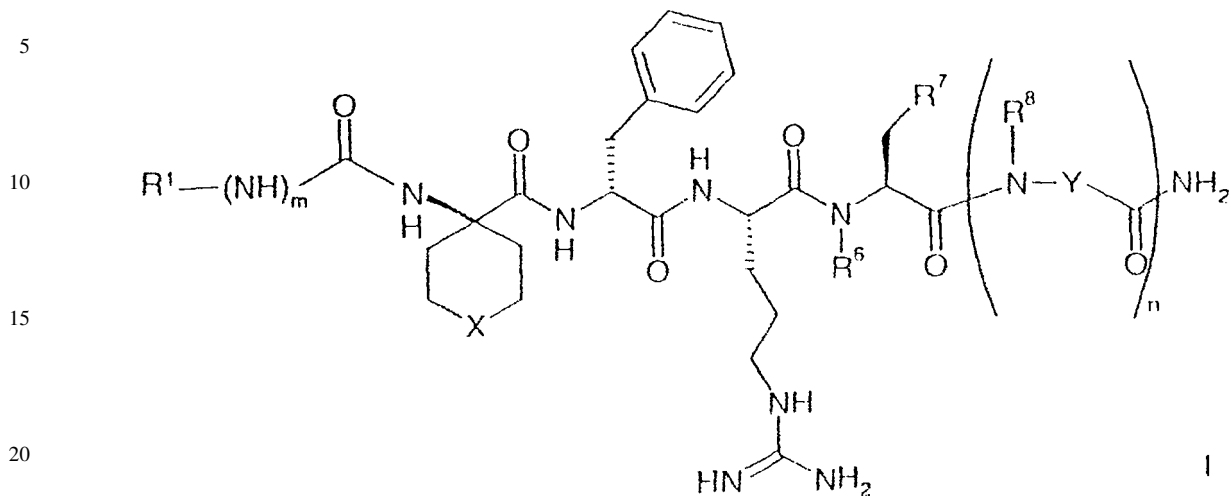
60

65

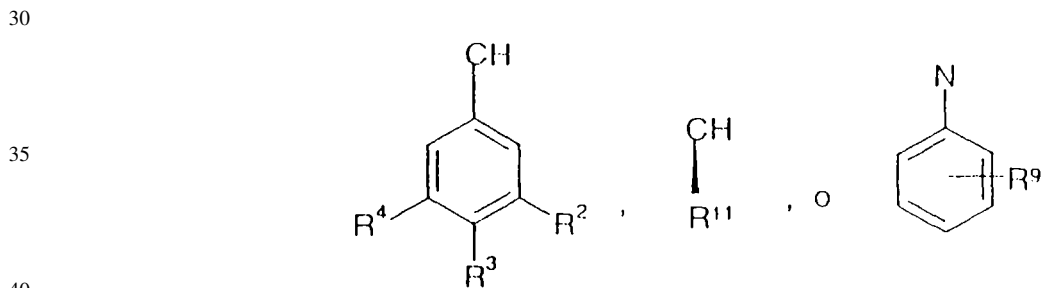


ES 2 304 128 T3

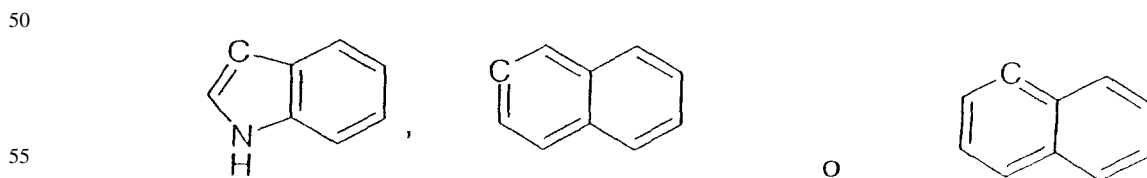
Esta invención proporciona un compuesto de la fórmula:



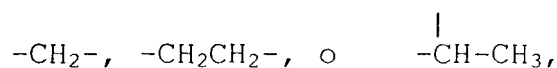
25 En compuestos de fórmula I, m es 0 ó 1, n es 0 ó 1, R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo, fenilo insustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono, X es



45 R², R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno o un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono, en donde cuando R³ es alcoxi, R² y R⁴ son ambos hidrógeno, R⁹ es hidrógeno, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o fenoxi insustituido, R¹¹ es ciclohexilo, cicloheptilo, o un alquilo ramificado que tiene desde 3 a 8 átomos de carbono, R es hidrógeno o metilo, R⁷ es

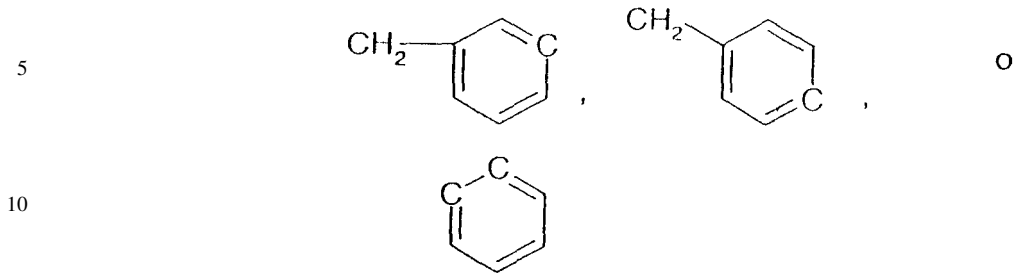


60 Y es



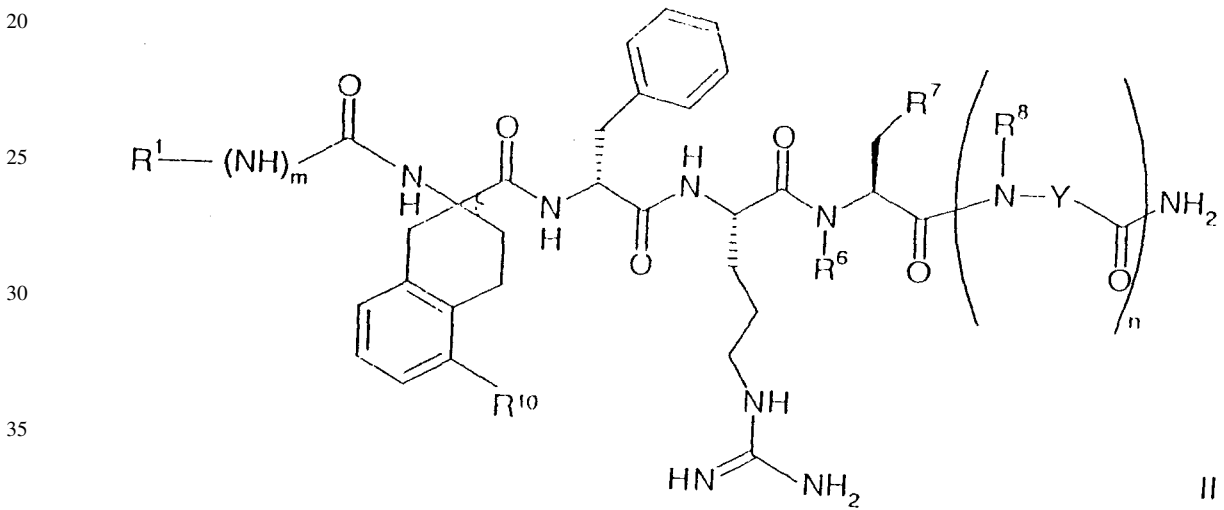
65 y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

Y es



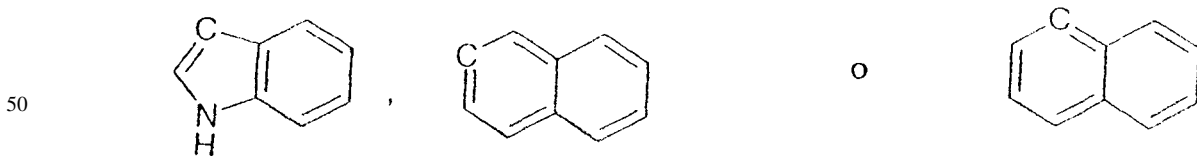
15 y R⁸ es hidrógeno

Esta invención proporciona un compuesto de la fórmula:

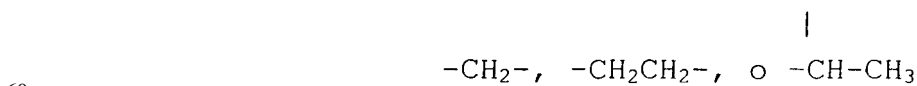


40 En los compuestos de fórmula II, m es 0 ó 1, n es 0 ó 1, R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo insustituido, o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono, R⁷ es

45



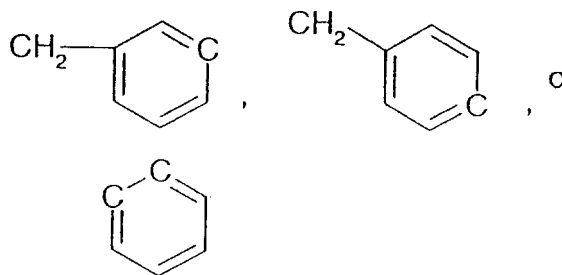
55 Y es



y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

65

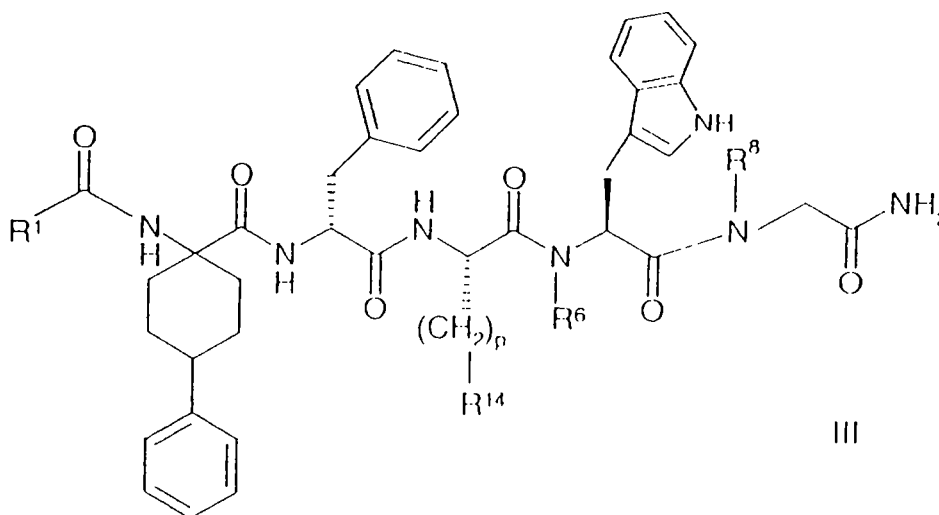
Y es



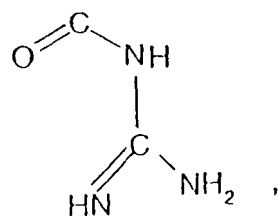
y R⁸ es hidrógeno,

15 R¹⁰ es hidrógeno, halo, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, o -NR¹²R¹³ en donde R¹² y R¹³ son cada uno independientemente un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o juntos son -(CH₂)_q- en donde q es 3, 4 ó 5.

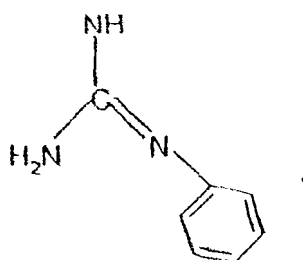
20 Esta invención proporciona un compuesto de la fórmula:



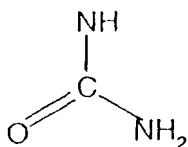
En los compuestos de fórmula III, R¹ es alquilo lineal o ramificado insustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono, R⁶ es hidrógeno o metilo, R⁸ es hidrógeno o metilo, p es 2, 3 ó 4 y R¹⁴ es



o p es 4 y R¹⁴ es



o p es 3 y R¹⁴ es



Los compuestos de las fórmulas I, II y III, así como también Penta-Adpc-(D)-Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-Ape-(D)-Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ son agonistas del MC4-R. Se sabe que los agonistas de la actividad de MC4-R causan la reducción de la ingestión de alimentos en un modelo de ratón de obesidad humana. Por lo tanto, los compuestos de fórmula I son útiles en el tratamiento o prevención de la obesidad.

Todos los compuestos de las fórmula I, II y III ejemplificados a continuación, así como también Penta-Adpc-(D)-Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-Ape-(D)-Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ fueron evaluados para determinar actividad agonista de MC4-R y actividad agonista de MC1-R en el ensayo *in vitro* que se describe a continuación en el Ejemplo de Actividad Biológica A. Todos los compuestos evaluados tuvieron un EC50 para actividad agonista de MC4-R inferior a 500 nM, y todos exhibieron por lo menos una actividad agonista de MC4-R 10 veces mayor que la actividad agonista de MC1-R. Como contraste, el compuesto Bu-His-(D)-Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ (Ejemplo 30) exhibió actividad agonista de MC1-R mayor que la actividad agonista de MC4-R.

Descripción detallada de la invención

Nomenclatura y abreviaciones

La nomenclatura utilizada para definir los péptidos es la que se utiliza típicamente en el arte, en donde el grupo amino en el término N aparece a la izquierda y el grupo carboxilo en el término C aparece a la derecha. Por aminoácidos naturales se entiende uno de los aminoácidos naturales que se encuentran en proteínas es decir, Gly, Ala, Val, Leu Ile, Ser, Thr, Lys, Arg, Asp, Asn, Glu, Gln, Cys, Met, Phe, Tyr, Pro, Trp y His. Cuando el aminoácido tiene formas isoméricas, la que se representa es la forma L del aminoácido, a menos que se indique explícitamente de otra forma.

Se usan las siguientes abreviaturas o símbolos para representar los aminoácidos, grupos protectores, solventes, reactivos y otros.

<u>Símbolo</u>	<u>Significado</u>
β -Ala	beta-Alanina
(2)-Nal	(2)-Naftilalanina
Atc	ácido 2-Aminotetralina-2-carboxílico
5-BrAtc	ácido 5-Bromo-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-ClAtc	ácido 5-cloro-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-MeOAtc	ácido 5-Metoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-EtOAtc	ácido 5-Etoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-iPrOAtc	ácido 5-Isopropoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-MeAtc	ácido 5-Metil-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-EtAtc	ácido 5-Etil-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-iPrAtc	ácido 5-Isopropil-2-aminotetralina-2-carboxílico
5-DmaAtc	ácido 5-Dimetilamino-2-aminotetralina-2-carboxílico
Sar	Sarcosina (N-metilglicina)
Cit	Citrulina

ES 2 304 128 T3

	Apc	ácido 1-Amino-4-fenilciclohexano-1-carboxílico
	4-HOApC	ácido 1-Amino-4-(4-hidroxifenil)ciclohexano-1-carboxílico
5	4-MeOApC	ácido 1-Amino-4-(4-metoxifenil)ciclohexano-1-carboxílico
	3-MeOApC	ácido 1-Amino-4-(4-metoxifenil)ciclohexano-1-carboxílico
	4-EtOApC	ácido 1-Amino-4-(4-etoxifenil)ciclohexano-1-carboxílico
10	4-iPrOApC	ácido 1-Amino-4-(4-isopropoxifenil)ciclohexano-1-carboxílico
	4-MeApC	ácido 1-Amino-4-(4-metilfenil)ciclohexano-1-carboxílico
15	4-ClApC	ácido 1-Amino-4-(4-clorofenil)ciclohexano-1-carboxílico
	Appc	ácido 4-Amino-1-fenilpiperidina-4-carboxílico
	2-MeAppc	ácido 4-Amino-1-(2-metilfenil)piperidina-4-carboxílico
20	2-iProAppc	ácido 4-Amino-1-(2-isopropoxifenil)piperidina-4-carboxílico
	3-MeAppc	ácido 4-Amino-1-(3-metilfenil)piperidina-4-carboxílico
25	3-MeOAppc	ácido 4-Amino-1-(3-metoxifenil)piperidina-4-carboxílico
	4-MeAppc	ácido 4-Amino-1-(4-metilfenil)piperidina-4-carboxílico
	4-ClAppc	ácido 4-Amino-1-(4-clorofenil)piperidina-4-carboxílico
30	4-PhOAppc	ácido 4-Amino-1-(4-fenoxifenil)piperidina-4-carboxílico
	Achc	ácido 1-Amino-4-ciclohexilciclohexano-1-carboxílico
35	Adpc	ácido 1-amino-4-difenilciclohexano-1-carboxílico
	Ape	ácido 1-Amino-4-fenilciclohex-3-eno-1-carboxílico
	Abc	ácido-1-Amino-4- <i>ter</i> -butilciclohexano-1-carboxílico
40	3-Amb	ácido 3-Aminometil-benzoico
	4-Amb	ácido 4-Aminometil-benzoico
45	2-Aba	ácido 2-Aminobenzoico
	Bu	Butilo
	Penta	Pentilo
50	Fmoc	9-Fluorenilmetoxicarbonilo
	Pmc	2,2,5,7,8-Pentametilmroman-6-sulfonilo
55	CH ₂ Cl ₂	Cloruro de metileno
	CH ₃ CN	Acetonitrilo
	DMF	Dimetilformamida
60	DIPEA	N,N-Diisopropiletilamina
	TFA	Ácido Trifluoroacético
65	HOBt	N-Hidroxibenzotriazol
	DIC	N,N'-diisopropilcarbodiimida

ES 2 304 128 T3

BOP	Benzotriazol-1-iloxi-tris-(dimetilamino)fosfonio Hexafluorofosfato
PyBroP	Bromo-tris-pirrolidino-fosfonio hexafluorofosfato
5 HBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio Hexafluorofosfato
FAB-EM	Espectrometría de masa de bombardeo atómico veloz
ES-EM	Espectrometría de masa de electrospray
10 NBSC	Cloruro de 2-nitrobencenosulfonilo
DEAD	N,N-dietilazodicarboxilato
15 Ph	Fenilo

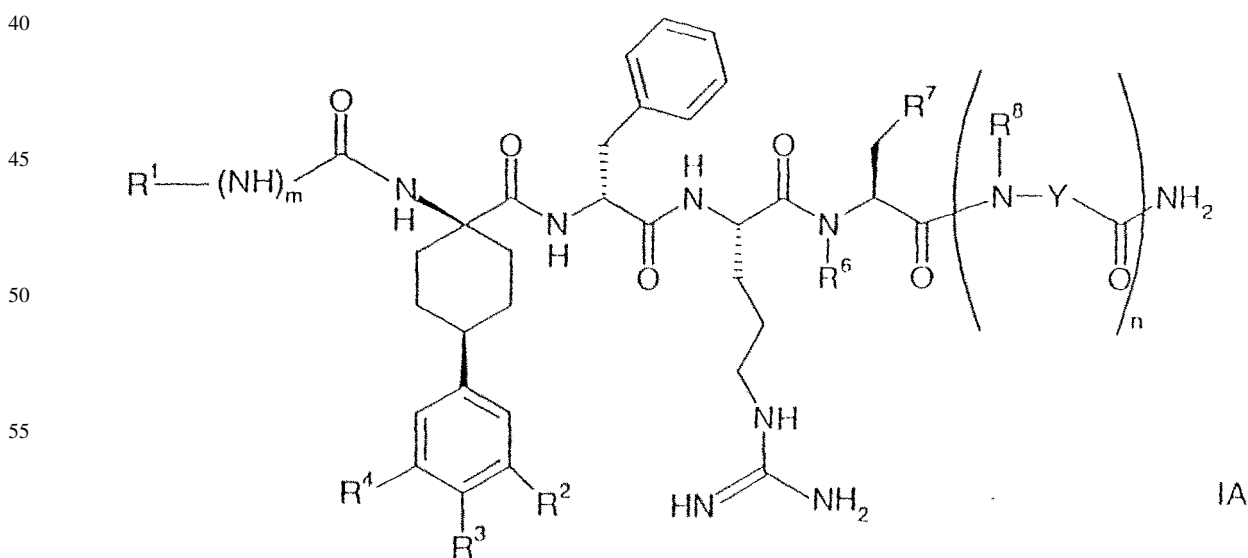
La exposición del aminoácido sustituido, entre paréntesis, indica análogos de la secuencia peptídica. La derivatización del grupo amino N-terminal se indica a la izquierda de la sustitución N-terminal, separada por un guión. Es decir, por ejemplo, Ac-His-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ indica un péptido que tiene una secuencia de aminoácidos en la cual un grupo acetilo ha sido sustituido con hidrógeno en el término N. Los sufijos “-OH” y “-H₂” luego del guión o del paréntesis se refieren a las formas de ácido libre y amida del polipéptido, respectivamente.

El término “alquilo”, a menos que se defina de otra forma, se refiere a hidrocarburos saturados con 1 a 8 átomos de carbono. Los grupos alquilo pueden ser lineales, tales como por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, o n-pentilo, o pueden ser también ramificados, tales como, por ejemplo, i-propilo o t-butilo. El término “inferior”, por ejemplo, en “alquilo inferior”, se refiere a grupos que tienen 1 a 6 átomos de carbono.

Descripción detallada de los compuestos

En los compuestos de fórmula I, generalmente se prefiere que R⁶ y R⁸ sean ambos hidrógeno, n sea 1 y R⁷ sea ya sea la primera o la segunda de las subestructuras que se muestran anteriormente. Son además preferidos los compuestos de las fórmulas IA, IB o IC, como se muestran a continuación.

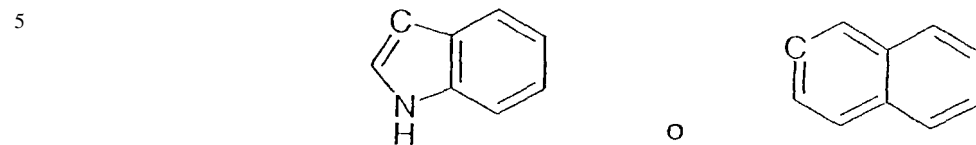
Los compuestos de fórmula IA se representan de la siguiente manera:



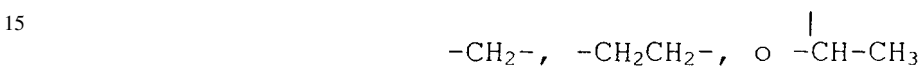
En el compuesto de fórmula IA, m es 0 ó 1. R es un alquilo lineal o ramificado insustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo insustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono. R², R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno; un alquilo lineal o ramificado que tiene desde

ES 2 304 128 T3

1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono; o cloro, en donde cuando R³ es alquilo, hidroxilo, alcoxi o cloro, R² y R⁴ son ambos hidrógeno, R⁶ es hidrógeno o metilo, R⁷ es

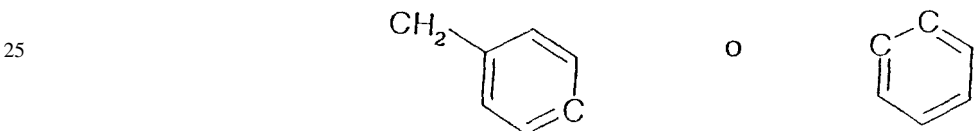


Y es



20 y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

Y es



30 R⁸ es hidrógeno.

En los compuestos de fórmula IA, R⁷ puede ser una cadena lateral de triptófano o un grupo 1- ó 2-naftilo. En compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es una cadena lateral de triptófano, es decir,



n puede ser 0 ó 1. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales n es 0 incluyen Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-NH₂ y Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metilTrp-NH₂. En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es una cadena lateral de triptófano y n es 1. Y puede ser un grupo alquilo lineal o ramificado seleccionado entre metileno, etileno o metileno metil-sustituído, es decir,



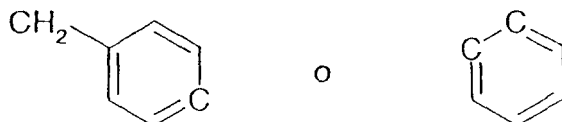
55 o una de las porciones que contienen arilo expuestas anteriormente. En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es una cadena lateral de triptófano y n es 1, Y es metileno, etileno o metileno metil-sustituído, m puede ser 0 ó 1. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales m es 1 incluyen Bu-carbanoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Bu-carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Ala-NH₂ y Bu-carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-β-Ala-NH₂. En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es una cadena lateral de triptófano, n es 1. Y es metileno, etileno o metileno metil-sustituído o m es 0, el anillo fenilo del grupo Apc puede ser o bien insustituído (es decir, R², R³ y R⁴ son hidrógeno) o sustituido. En dichos compuestos en los cuales el anillo fenilo del grupo Apc es insustituído, R¹ puede ser, por ejemplo, un alquilo lineal insustituído tal como en los compuestos Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Sar-NH₂, Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metil-Trp-Gly-NH₂, Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Ala-NH₂ o Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-β-Ala-NH₂; o fenilo insustituído tal como en los compuestos Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Ala-NH₂, o fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Ala-NH₂. En dichos compuestos en los cuales el anillo fenilo del grupo Apc es sustituido, un patrón de sustitución preferido es en donde R³ es alquilo, hidroxilo, alcoxi o cloro (con más preferencia R³ es hidroxilo o alcoxi) y R² y R⁴ son hidrógeno. Ejemplos incluyen Penta-4-ClApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-4-MeApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-4-OHApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-4-

ES 2 304 128 T3

MeOApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-4-EtOApc-(D) Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-4-iPrOApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂. Otro patrón de sustitución preferido es en donde R² es alcoxi, R³ es hidrógeno y R⁴ es hidrógeno, por ejemplo, en el compuesto Penta-3-MeOApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂. En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es una cadena lateral de triptófano y n es 1, e Y es

5

10



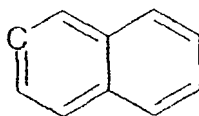
15

m puede ser 0 ó 1. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales m es 1 incluyen Bu-carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂ y Bu-carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-3-Amb-NH₂. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales m es 0 incluyen Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂, Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂, Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-3-Amb-NH₂, Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-3-Amb-NH₂, Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-4-Amb-NH₂ y Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-4-Amb-NH₂.

20

En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es 2-naftilo, es decir,

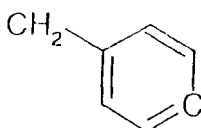
25



30

se prefiere que R², R³ y R⁴ sean hidrógeno. Ejemplos de dichos compuestos incluyen Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metil(2)Nal-NH₂ y Bu-Carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂. En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es 2-naftilo, se prefiere que n sea 1 y m sea 0. En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es 2-naftilo, n es 1 y m es 0, e Y es metileno o metileno metil-sustituido, R¹ puede ser, por ejemplo, un alquilo lineal insustituido. Ejemplos de dichos compuestos incluyen Penta-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂, Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂, Ac-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂, Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metil(2)Nal-Gly-NH₂, Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Ala-NH₂ y Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-beta-Ala-NH₂. Alternativamente, R¹ puede ser, por ejemplo, fenilo insustituido, o alquilo sustituido con fenilo o carboxilo. Ejemplos de dichos compuestos incluyen Benzoil-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂, 3-carboxilpropanoil-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂ y 3-carboxilpropanoil-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂. En los compuestos de fórmula IA en los cuales R⁷ es 2 naftilo, n es 1 y m es 0, e Y es

40



45

se prefiere que R¹ sea alquilo inferior no sustituido. Ejemplos de dichos compuestos incluyen Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-3-Amb-NH₂, Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-2-Abb-NH₂ y Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-4-Amb-NH₂.

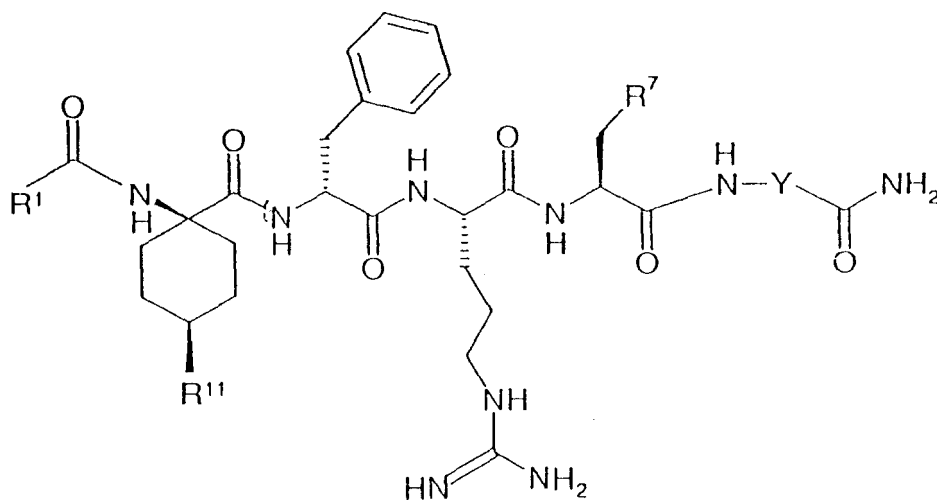
50

Los compuestos de fórmula IB se representan de la siguiente manera:

55

60

65

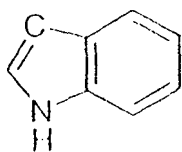


IB

ES 2 304 128 T3

En los compuestos de fórmula IB, R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono, R⁷ es

5



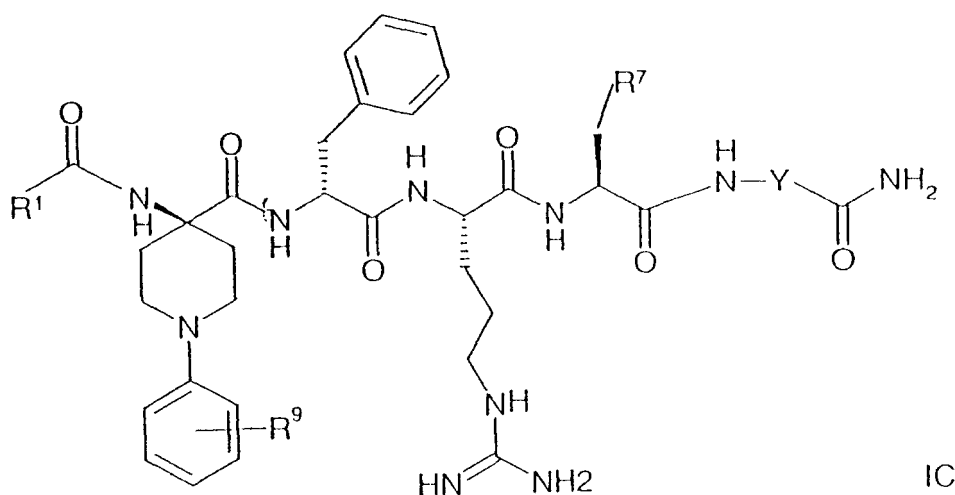
10

R¹¹ es ciclohexilo, o un alquilo ramificado que tiene desde 3 a 8 átomos de carbono. Y es metileno, es decir, -CH₂-. Ejemplos de compuestos de fórmula IB incluyen Penta-Abc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-Achc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂.

15

Los compuestos de fórmula IC se representan de la siguiente manera:

20



25

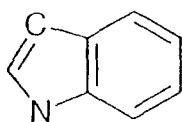
30

35

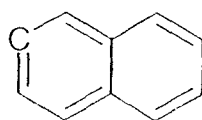
IC

En los compuestos de fórmula IC, R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono, R⁷ es

40



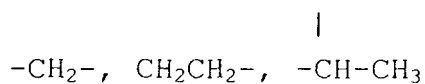
o



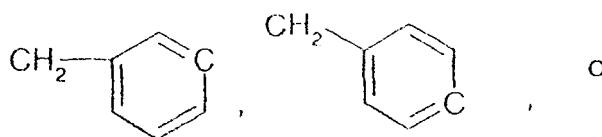
;

50 y es

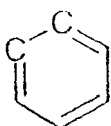
55



60



65



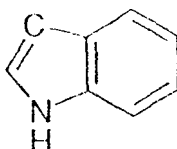
;

y

R^9 es hidrógeno, un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, flúor, cloro o fenoxi no sustituido.

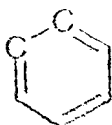
Ejemplos de compuestos de fórmula IC en los cuales R^9 es hidrógeno incluyen Penta-Apcc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-Apcc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂. Ejemplos de compuestos de fórmula IC en los cuales R^9 es un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono incluyen Penta-2-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-2-iPrAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-3-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-4-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂. Ejemplos de compuestos de fórmula IC en los cuales R^9 es un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, o fenoxi insustituido, incluyen Penta-3-MeOAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-4-PhOAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂. Ejemplos de compuestos de fórmula IC en los cuales R^9 es cloro incluyen Penta-4-ClAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂.

En los compuestos de fórmula II generalmente se prefiere que R^6 y R^8 sean hidrógeno, R^7 puede ser, por ejemplo, una cadena lateral de triptófano, es decir,



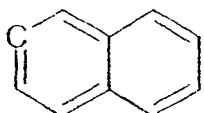
o 2-naftilo. Cuando R^7 es una cadena lateral de triptófano, generalmente se prefiere que n sea 1. Entre los compuestos de fórmula II en los cuales R^6 y R^8 son hidrógeno; R^7 es una cadena lateral de triptófano y n es 1, se incluyen compuestos en los cuales Y es -CH₂- y m es 0. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales R^{10} es hidrógeno o un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono incluyen Bu-Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-5-Me-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-5-Et-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-5-iPr-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales R^{10} es halo incluyen Penta-5-Br-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-5-Br-Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-5-Cl-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales R^{10} es un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono incluyen Penta-5-MeO-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, Penta-5-EtO-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-5-iPrO-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂. Ejemplos de dichos compuestos en los cuales R^{10} es -NR¹²R¹³, en donde R^{12} y R^{13} son cada uno metilo, incluyen Penta-5-DmaAtc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂.

Entre los compuestos de fórmula II en los cuales R^6 y R^8 son hidrógeno; R^7 es una cadena lateral de triptófano y n es 1, se incluyen compuestos en los cuales Y es



y R^{10} es halo. Ejemplos de dichos compuestos incluyen Bu-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂, Bu-carbamoyl-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂ y Fenilacetil-(D,L)-5-Br-Atc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂.

En los compuestos de fórmula II en los cuales R^6 y R^8 son hidrógeno; R^7 es 2-naftilo, es decir,



;

generalmente se prefiere que R^{10} sea halo. Ejemplos de dichos compuestos incluyen Penta-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂, 3-carboxilpropanoil-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂, Fenilacetil-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂ y Bu-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-2-Aba-NH₂.

Ejemplos de compuestos de fórmula III incluye Bu-Apc-(D)Phe-FenilhomArg-Trp-Gly-NH₂, Penta-Apc-(D)Phe-Cit-Trp-Gly-NH₂, Penta-Adpc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y Penta-Ape-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂.

ES 2 304 128 T3

Los compuestos preferidos como se describen anterior-mente son aquellos descritos individualmente en los ejemplos.

Los compuestos especialmente preferidos como se describen anteriormente son aquellos seleccionados entre el grupo que consiste de

Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-4-MeOApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-4-EtOApc-(D)Phe-Arg-Gly-NH₂,

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-beta-Ala-NH₂,

Penta-Apc-(D)Phe-Cit-Trp-Gly-NH₂,

Penta-Abc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-Achc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-Appc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ y

Penta-4-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂.

Los compuestos como se describen anteriormente son útiles para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades que están asociadas con el receptor de melanocortina-4, tales como la obesidad. En consecuencia, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se describe anteriormente y un portador y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. La presente invención además se refiere a compuestos como se describen anteriormente, para el uso como sustancias activas terapéuticas, en particular como sustancias activas terapéuticas para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades que están asociadas con el receptor de melanocortina-4, tales como la obesidad. Otra realización preferida de la presente invención es un método para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades que están asociadas con el receptor de melanocortina-4 tales como la obesidad, cuyo método comprende administrar un compuesto como se define anteriormente a un ser humano o a un animal. La invención también se refiere al uso de compuestos como se describen anteriormente para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades que están asociadas con el receptor de melanocortina-4, tales como la obesidad. El uso de los compuestos como se definen anteriormente para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades que están asociadas con el receptor de melanocortina-4, tales como la obesidad es otra realización preferida de la presente invención. Dichos medicamentos comprenden un compuesto como se describe anteriormente.

Síntesis Química

Los compuestos de esta invención se pueden sintetizar con facilidad por cualquier procedimiento convencional conocido para la formación de una unión peptídica entre aminoácidos. Dichos procedimientos convencionales incluyen, por ejemplo, cualquier procedimiento de fase de solución que permita una condensación entre el grupo amino alfa libre de un aminoácido o residuo del mismo que tiene su grupo carboxilo u otros grupos reactivos protegidos, y el grupo carboxilo primario libre de otro aminoácido o residuo del mismo que tiene su grupo amino u otros grupos reactivos protegidos.

La síntesis de estos compuestos se puede llevar a cabo por un procedimiento por el cual cada aminoácido en la secuencia deseada se agrega uno por vez, en sucesión a otro aminoácido o residuo del mismo, o por un procedimiento por el cual primero se sintetizan de manera convencional fragmentos peptídicos con la secuencia de aminoácidos deseada, y luego se condensan para proporcionar el péptido deseado.

Dichos procedimientos convencionales para la síntesis de los nuevos compuestos de la presente invención incluyen, por ejemplo, cualquier método de síntesis peptídica de fase sólida. En dicho método la síntesis de los nuevos compuestos se puede llevar a cabo incorporando en forma secuencial los residuos de aminoácidos deseados uno por vez, en la cadena peptídica en crecimiento, de acuerdo con los principios generales de métodos de fase sólida [Merri-field, R. B., *J. Amer. Chem. Soc.* **1963**, 85, 2149-2154; Barany y otros, *The Peptides, Analysis, Synthesis and Biology*, Vol. 2, Gross, E. y Meienhofer, J., Eds. Academic Press 1-284 (1980)].

Es común en la síntesis química de péptidos, la protección de grupos de cadena lateral reactivos de las varias porciones de aminoácidos, con grupos protectores adecuados, lo que evitará que se produzca una reacción química en el sitio hasta que el grupo protector sea separado finalmente. Habitualmente también es común la protección del grupo amino alfa de un aminoácido o fragmento, mientras que la entidad reacciona en el grupo carboxilo, seguido de la separación selectiva del grupo protector de amino alfa, y permitiendo que una reacción subsiguiente tenga lugar en ese sitio. Mientras que a continuación se mencionan grupos protectores específicos con respecto al método de

ES 2 304 128 T3

síntesis de fase sólida, debería observarse que cada aminoácido puede ser protegido por cualquier grupo protector convencionalmente utilizado para el respectivos aminoácido en síntesis de fase de solución.

Por ejemplo, los grupos amino alfa pueden ser protegidos por un grupo protector adecuado seleccionado entre grupos protectores del tipo uretano aromático, tales como benciloxicarbonilo (Z) y benciloxicarbonilo sustituido, tal como p-clorobenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxi-carbonilo, p-bromobenciloxicarbonilo, p-bifenil-isopropoxi-carbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc) y p-metoxi-benciloxicarbonilo (Moz); grupos protectores del tipo uretano alifático, tales como t-butoxicarbonilo (Boc), diisopropilmetoxicarbonilo, isopropoxicarbonilo y aliloxi-carbonilo. En la presente, Fmoc es el más preferido para la protección de amino alfa.

Los grupos guanidino pueden ser protegidos por un grupo protector adecuado seleccionado entre nitro, p-toluen-sulfonilo (Tos), Z, pentametilcromanosulfonilo (Pmc), ada-mantiloxicarbonilo y Boc. Pmc es el más preferido para arginina (Arg).

En los ejemplos, todos los solventes, isopropanol (iPrOH), cloruro de metileno (CH_2Cl_2), dimetilformamida (DMF) y N-metilpirrolidinona (NMP) se obtuvieron de Fisher o Burdick and Jackson, y se usaron sin destilación adicional. El ácido trifluoroacético se obtuvo de Halocarbon o Fluka, y se usó sin purificación adicional. Diisopropilcarbodiimida (DIC) y diisopropiletilamina (DIPEA) se obtuvieron de Fluka o Aldrich, y se usaron sin purificación adicional. Hidroxibenzotriazol (HOBT), dimetilsulfuro (DMS) y 1,2-etanodiol (EDT) se obtuvieron de Sigma Chemical Co., y se usaron sin purificación adicional. Los aminoácidos protegidos en general fueron de la configuración L, y se obtuvieron comercialmente de Bachem, Advanced ChemTech, o Neosystem. La pureza de estos reactivos fue confirmada por cromatografía de capa delgada, RMN y punto de fusión, antes del uso. Resina de benzhidrilamina (BHA) fue un copolímero de estireno -1% divinilbenceno (red 100-200 ó 200-400) obtenida de Bachem o Advanced Chemtech. El contenido de nitrógeno total de estas resinas en general fue entre 0,3-1,2 meq/g.

La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se condujo en un aparato LDC, que consistía de bombas Constametric I y III, un programador de solvente Gradient Master y mezcladora, y un detector de UV de longitud de onda variable Spectromonitor III. HPLC analítica se efectuó en modo de fase inversa, usando columnas Vydac C_{18} (0,4 x 30 cm). Las separaciones de HPLC preparativa se hicieron en columnas Vydac (2 x 25 cm).

Los péptidos se prepararon usando síntesis de fase sólida siguiendo los principios y método general descrito por Merrifield, [*J. Amer. Chem. Soc.*, **1963**, 85, 2149], si bien podría usarse otra síntesis química equivalente conocida en el arte, como se menciona anteriormente. La síntesis de fase sólida se comienza desde el extremo C-terminal del péptido, acoplado un aminoácido alfa protegido a una resina adecuada. Dicho material inicial puede prepararse adjuntando un aminoácido alfa-amino-prottegido por medio de una unión de éster a una resina alcohólica de p-benciloxibencilo (Wang), o por medio de un enlace de amida entre un Conector Fmoc, tal como ácido p-[(R,S)- α -[1-(9H-fluoren-9-il)-metoxiformamido]-2,4-dimetiloxibencil]-fenoxi-acético (conector Rink) a una resina de benzhidrilamina (BHA). La preparación de la resina de hidroximetilo es bien conocida en el arte. Los soportes de Fmoc-Conector-BHA resina se encuentran comercialmente disponibles, y se usan generalmente cuando el péptido deseado que se está sintetizando tiene una amida insustituída en el término C.

En general, los aminoácidos o miméticos se acoplan sobre la Fmoc-Conector-BHA resina usando la forma protegida con Fmoc de aminoácido o mimético, con 2-5 equivalentes de aminoácido y un reactivo de acoplado adecuado. Luego de los acoplamientos, la resina puede ser lavada y secada bajo vacío. La carga del aminoácido sobre la resina puede ser determinada por análisis de aminoácidos de una alícuota de resina Fmoc-aminoácido, o por medio de la determinación de los grupos Fmoc por análisis de UV. Cualquier grupo amino no reaccionado puede ser cubierto, haciendo reaccionar la resina con anhídrido acético y diisopropiletilamina en cloruro de metileno.

Las resinas son llevadas a través de varios ciclos repetitivos para agregar aminoácidos en forma secuencial. Los grupos protectores Fmoc de amino alfa son separados bajo condiciones básicas. Se puede usar piperidina, piperazina o morfolina (20-40% v/v) en DMF para este propósito. Con preferencia se utiliza piperidina al 40% en DMF.

Luego de la separación del grupo protector de amino alfa, los aminoácidos protegidos subsiguientes son acoplados por etapas, en el orden deseado, para obtener una resina peptídica protegida, intermediaria. Los reactivos activantes utilizados para acoplar los aminoácidos en la síntesis de fase sólida de los péptidos son bien conocidos en el arte. Por ejemplo, los reactivos apropiados para dichas síntesis son benzotriazol-1-iloxi-tri-(dimetilamino)fosfonio hexa-fluorofosfato (BOP), Bromo-tris-pirrolidino-fosfonio hexa-fluorofosfato (PyBroP), 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HBTU) y diisopropil-carbodiimida (DIC). Aquí son preferidos HBTU y DIC. Se pueden utilizar otros agentes activantes, como lo describen Barany y Merrifield [*The Peptides*, Vol. 2, J. Meienhofer, ed., Academic Press, 1979, páginas 1-284]. Varios reactivos, tales como 1-hidroxibenzotriazol(HOBT), N-hidroxisuccinimida (HOSu) y 3,4-dihidro-3-hidroxi-4-oxo-1,2,3-benzotriazina (HOBT) pueden agregarse a las mezclas de acoplamiento, para optimizar los ciclos sintéticos. Aquí se prefiere HOBT.

El protocolo para un ciclo sintético típico es el siguiente:

ES 2 304 128 T3

Protocolo 1

5	Paso	Reactivo	Tiempo
	1	DMF	2 x 30 seg
10	2	piperidina 40%/DMF	1 min
	3	piperidina 40%/DMF	15 min
15	4	DMF	2 x 30 seg
	5	iPrOH	2 x 30 seg
20	6	DMF	3 x 30 seg
	7	acoplamiento	60 min-18 horas
25	8	DMF	2 x 30 seg
	9	iPrOH	1 x 30 seg
30	10	DMF	1 x 30 seg
	11	CH ₂ Cl ₂	2 x 30 seg

35 Los solventes para todos los lavados y acoplamientos se midieron a volúmenes de 10-20 ml/g resina. Las reacciones de acoplamiento durante toda la síntesis fueron monitoreadas por el test de ninhidrina de Kaiser, para determinar el alcance de terminación [Kaiser y otros, *Anal. Biochem.* **1970**, *34*, 595-598]. Se observó lenta cinética de reacción para Fmoc-Arg(Pmc) y para acoplamientos a aminas secundarias por ácidos estéricamente impedidos. Cualquier reacción de acoplamiento incompleta fue o bien acoplada nuevamente con aminoácido activado preparado recientemente, o cubierta por medio del tratamiento de la resina peptídica con anhídrido acético, como se describe anteriormente. Las resinas peptídicas completamente ensambladas se secaron al vacío durante varias horas.

45 Para cada compuesto, los grupos bloqueantes se eliminaron, y el péptido se disoció de la resina por el siguiente procedimiento. Generalmente, las resinas peptídicas se trataron con 100 μ l de etanoditiol, 100 μ l de dimetilsulfuro, 300 μ l de anisol y 9,5 ml de ácido trifluoroacético, por gramo de resina, a temperatura ambiente durante 120 minutos. La resina se separa por filtración y los filtrados se precipitan en éter etílico helado. Los precipitados son centrifugados y la capa de éter se decanta. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente. Los productos crudos se secan bajo vacío.

Purificación de preparaciones peptídicas crudas

50 La purificación de los péptidos crudos se llevó a cabo por HPLC preparativa. Los péptidos se aplicaron a las columnas en un volumen mínimo ya sea de AcOH/H₂O, o TFA 0,1%/H₂O. La elusión de gradiente se inició generalmente a 10% tampón B, 10%-60% B en 90 minutos (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) a un índice de flujo de 8 ml/min. La detección de UV se hizo a 280 nm. Las fracciones se recolectaron a intervalos de 1,0-2,5 minutos, y se inspeccionaron por HPLC analítica. Las fracciones que se consideraron de alta pureza se reunieron y se liofilizaron.

60 La pureza de los productos finales se chequeó por HPLC analítica en una columna de fase inversa, como se establece anteriormente. Se juzgó que la pureza de todos los productos era aproximadamente 96-99%. Todos los productos finales también se sometieron a espectrometría de masa de bombardeo atómico veloz (FAB-EM) o a espectrometría de masa de electrospray (ES-EM). Todos los productos rindieron los iones M+H progenitores esperados dentro de límites aceptables.

65 Utilizando las técnicas que se describen anteriormente, los compuestos de esta invención pueden ser sintetizados de acuerdo con los siguientes esquemas de reacción.

ES 2 304 128 T3

Esquema A

5

10

15

20

25

30

35

40

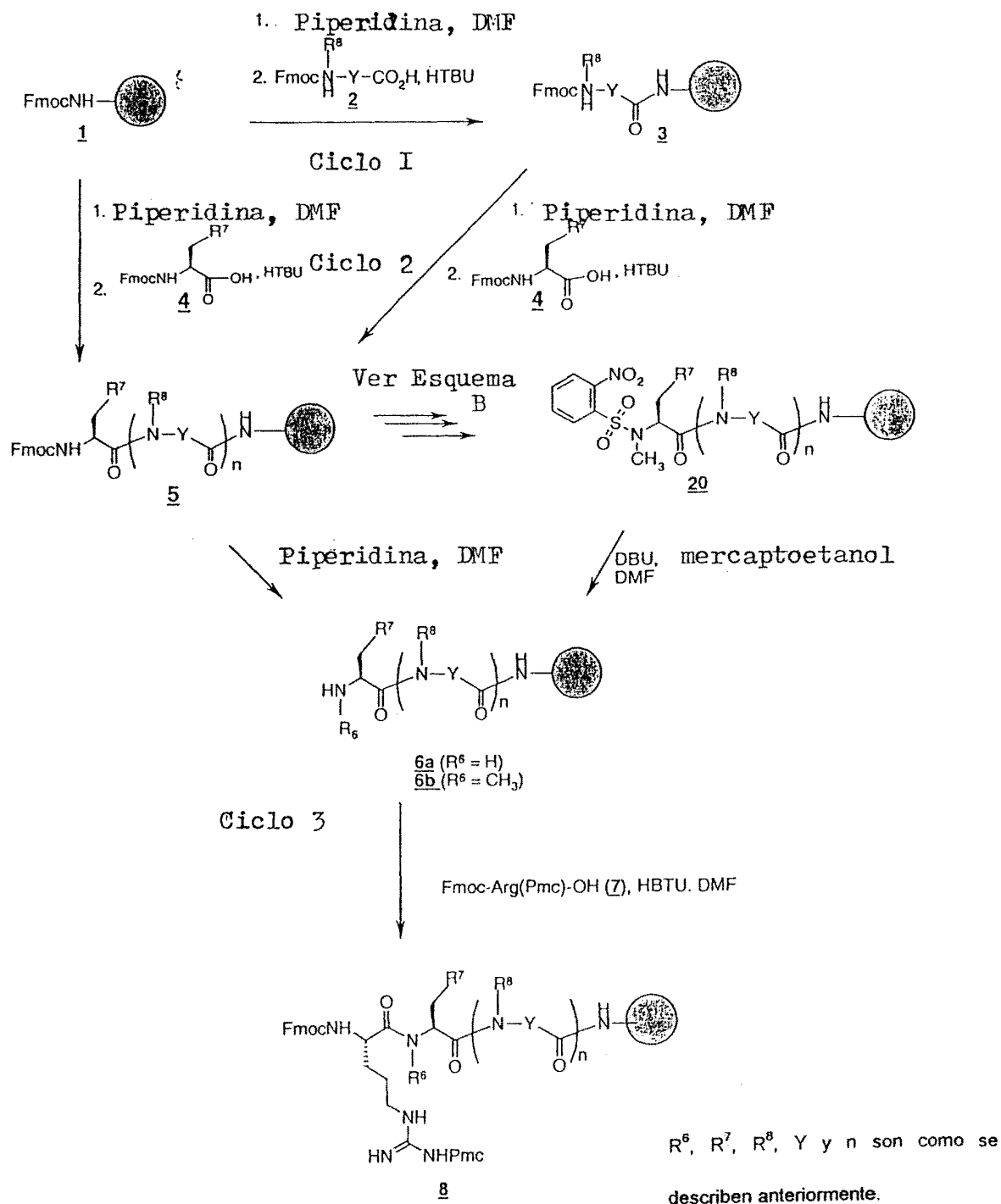
45

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

Esquema B

$R^6, R^7, R^8, R^{10}, X, Y$ y n son como se describen anteriormente.

5

10

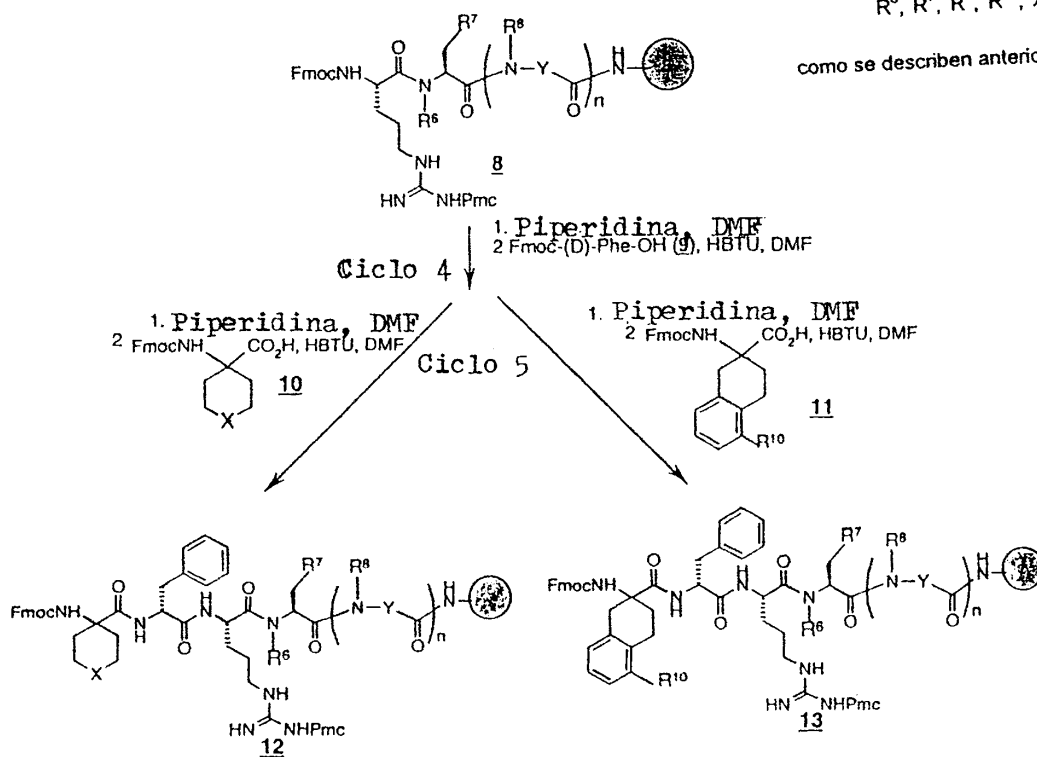
15

20

25

30

35



Esquema C

40

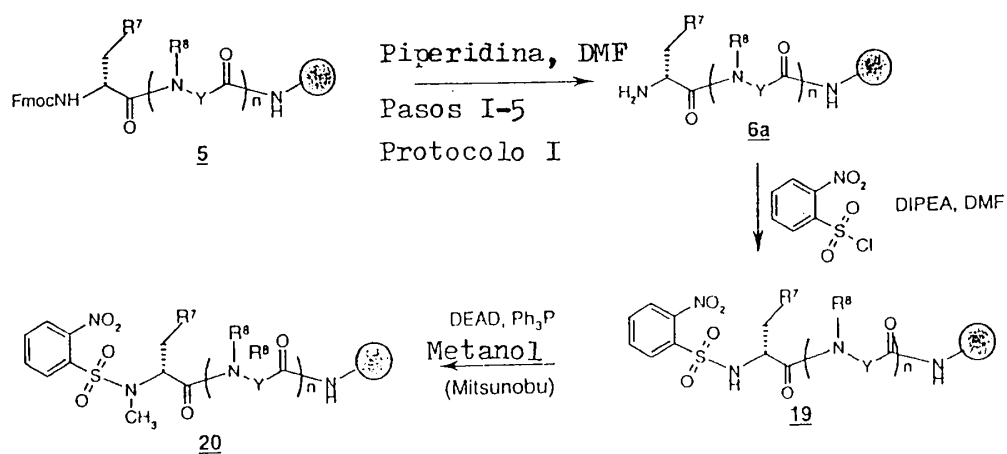
45

50

55

60

65

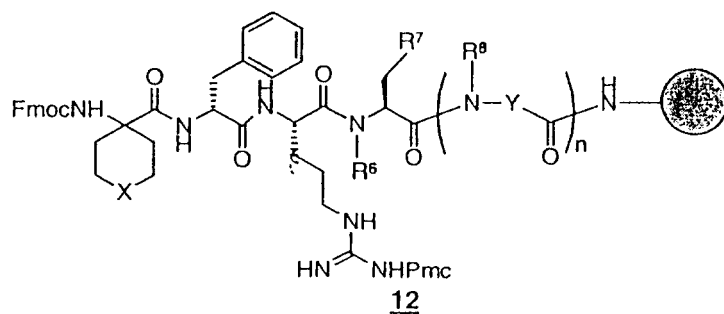


R^7, R^8, Y y n son como se describen anteriormente.

ES 2 304 128 T3

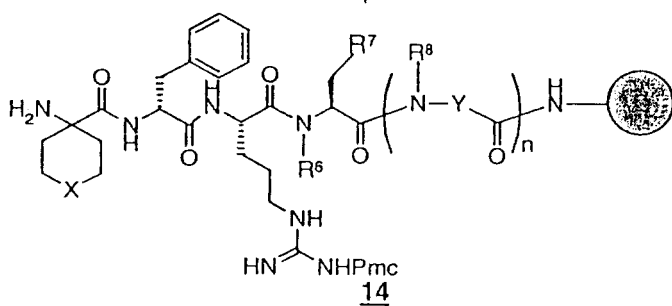
Esquema D

5



Piperidina, DMF

20

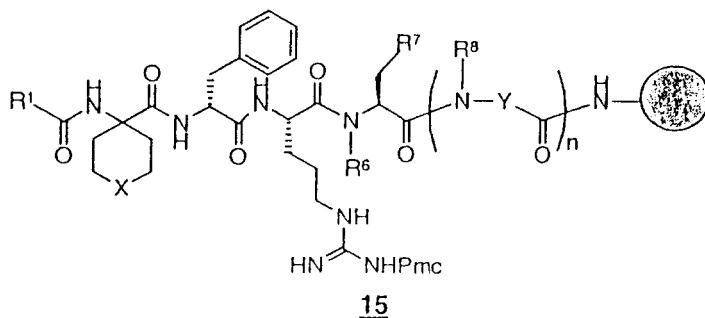


R¹, R⁶, R⁷, R⁸, X, Y y n son
como se describen
anteriormente.

35

N-acilación

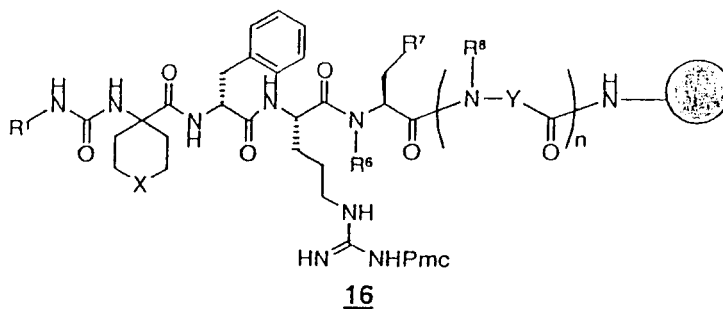
40



50

R¹-NCO
DIPEA, DMF

55



65

Esquema E

5

10

15

20

25

30

35

40

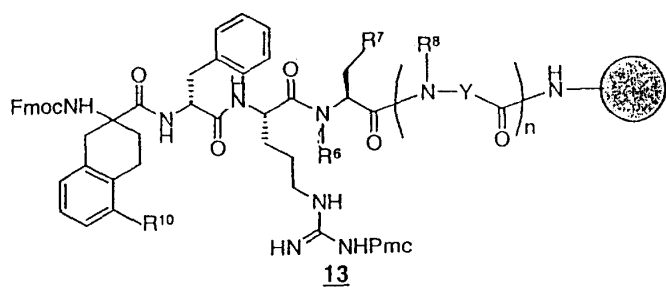
45

50

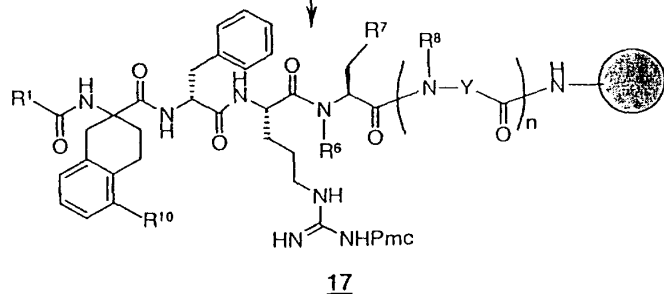
55

60

65



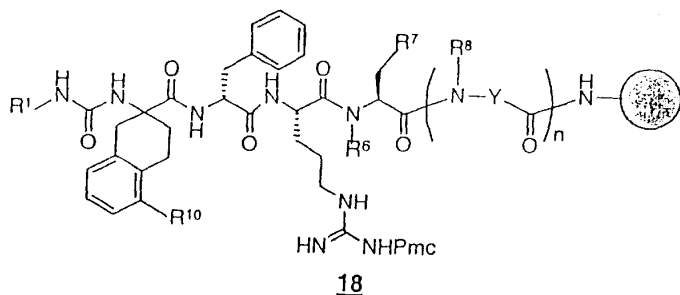
1. piperidina, DMF
2. N-acilación



R¹, R⁶, R⁷, R⁸, R¹⁰, Y y n son como se describen anteriormente.

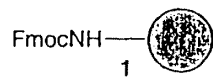
13

1. Piperidina, DMF
2. R¹-N=C=O, DIPEA.
DMF o CH₂Cl₂



Esquema F

5

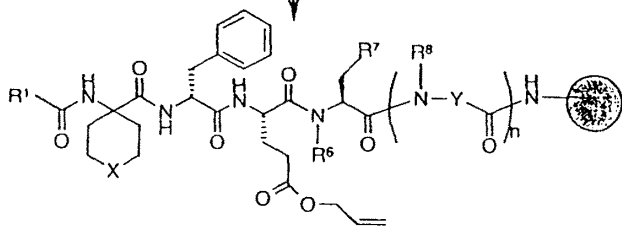


10

1. (a) Piperidina, DMF
(b) FmocAA (2), HBTU, DMF
2. (a) Piperidina, DMF
(b) FmocAA (4), HBTU, DMF
3. (a) Piperidina, DMF
(b) Fmoc-Glu(alilo)-OH (21), HBTU
4. (a) Piperidina, DMF
(b) FmocAA (9), HBTU, DMF
5. (a) Piperidina, DMF
(b) FmocAA (10), HBTU, DMF
6. (a) Piperidina, DMF
(b) R₁-CO₂H, HBTU, DMF

15

20

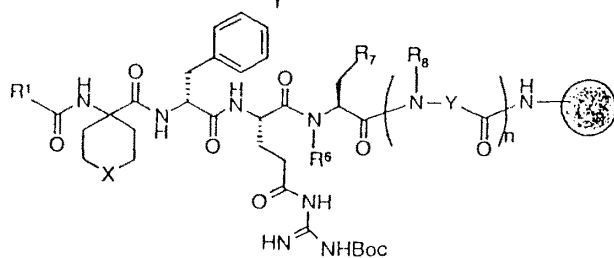


25

30

1. PdCl₂, Ph₃P, tri-~~n~~-butilestaño hidruro, DMF
2. Boc-guanidina.HCl, HBTU

35



40

45

50

R¹, R⁶, R⁷, R⁸, X, Y y n son
como se describen anteriormente.

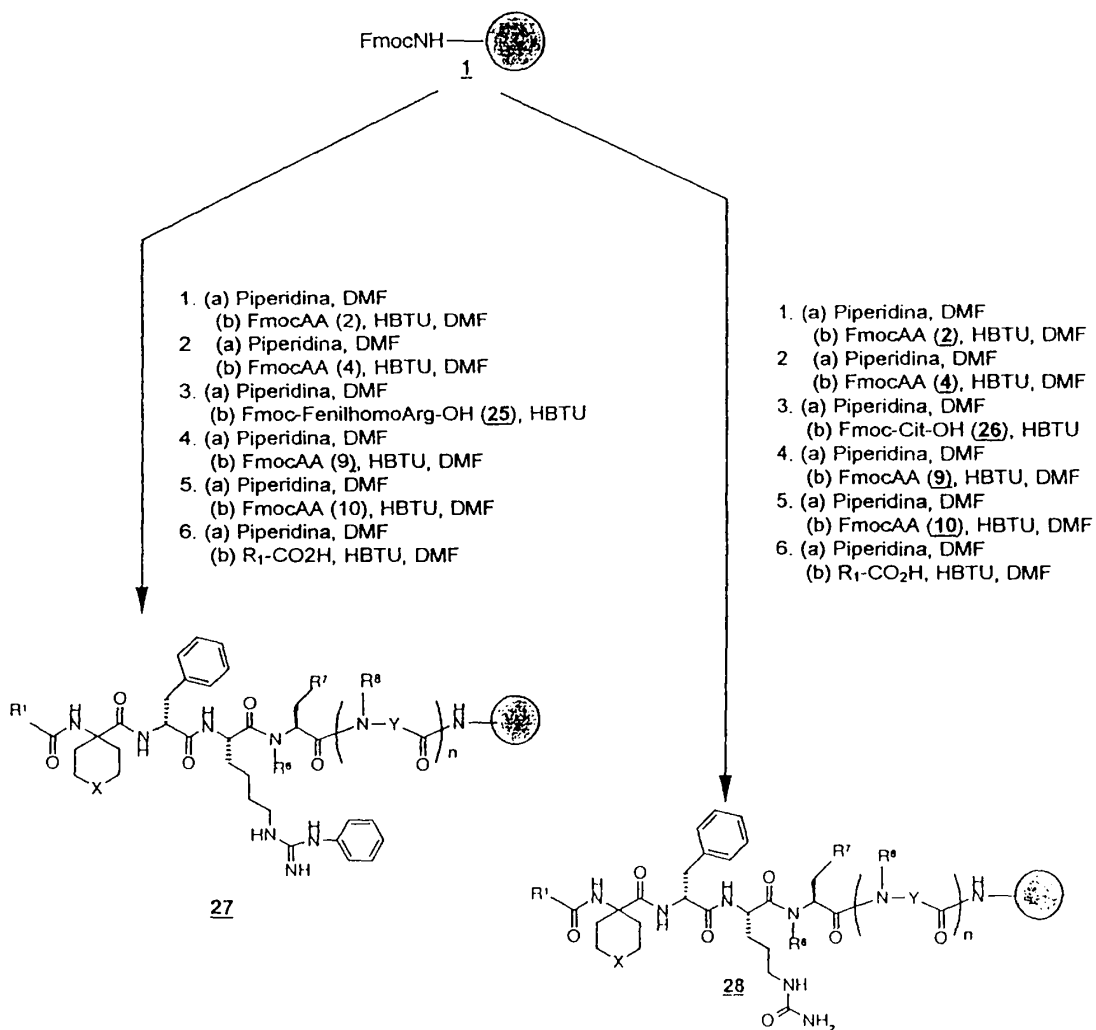
55

60

65

Esquema G

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



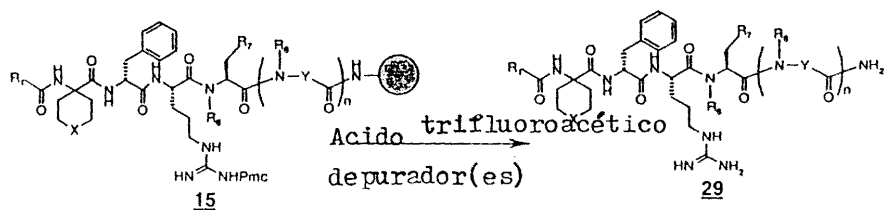
R¹, R⁶, R⁷, R⁸, X, Y y n son
como se describen anteriormente.

ES 2 304 128 T3

Esquema H

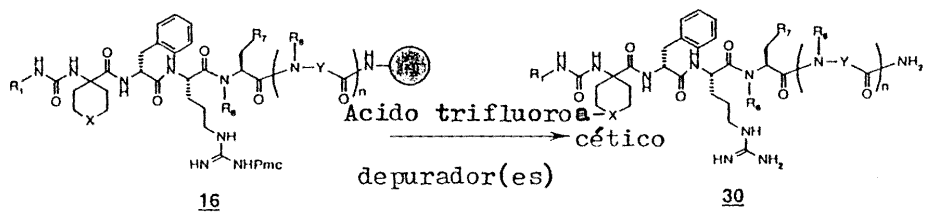
5

10



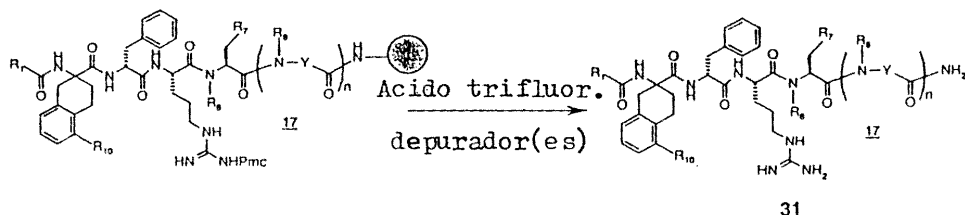
15

20



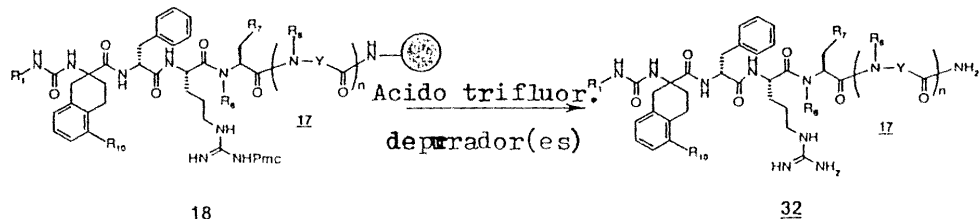
25

30



35

40



45

50

$R_1, R_6, R_7, R_8, R_{10}, X, Y$ y n
 son como se describen anteriormente.

55

60

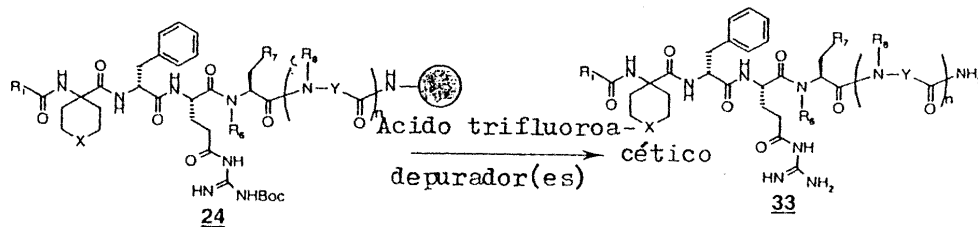
65

ES 2 304 128 T3

Esquema H (continuación)

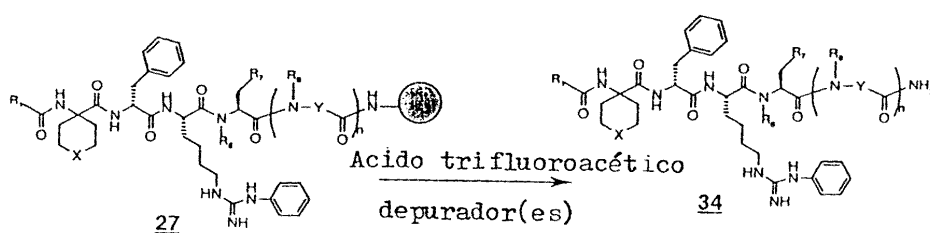
5

10



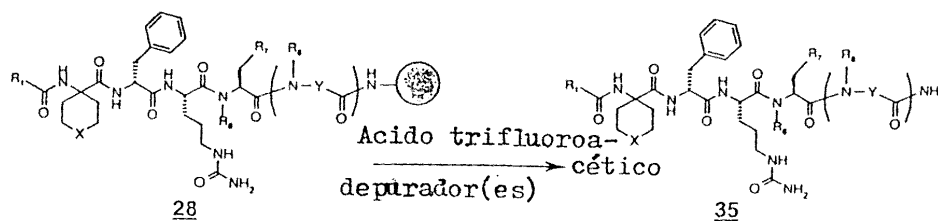
15

20



25

30



35

40

45

$R_1, R_6, R_7, R_8, R_{10}, X, Y$ y n
son como se describen anteriormente.

50

55

60

65

ES 2 304 128 T3

Esquema I

5

10

15

20

25

30

35

40

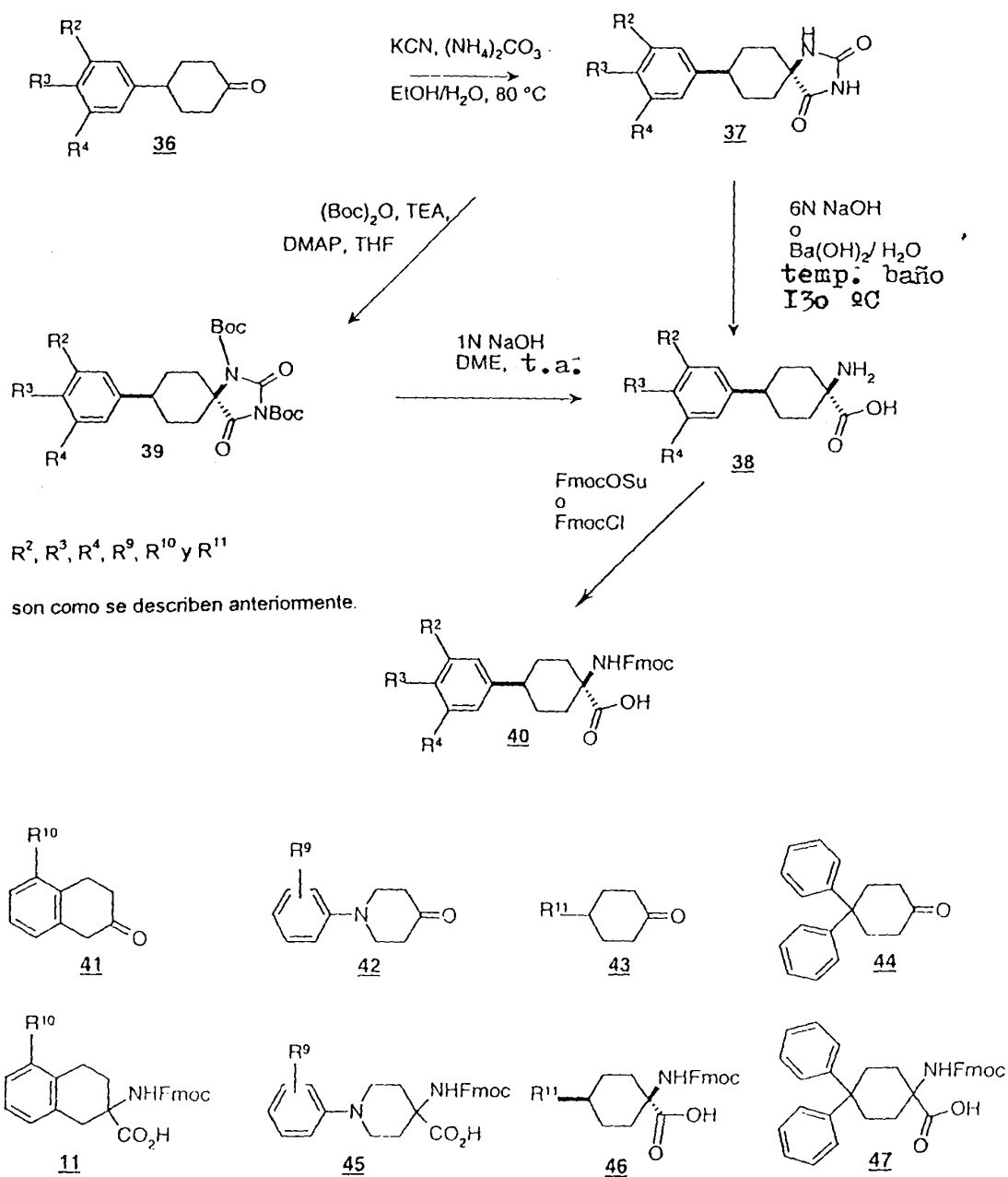
45

50

55

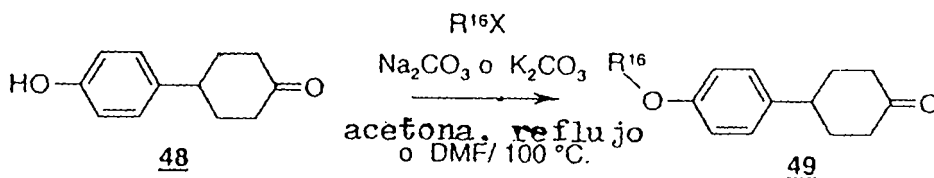
60

65

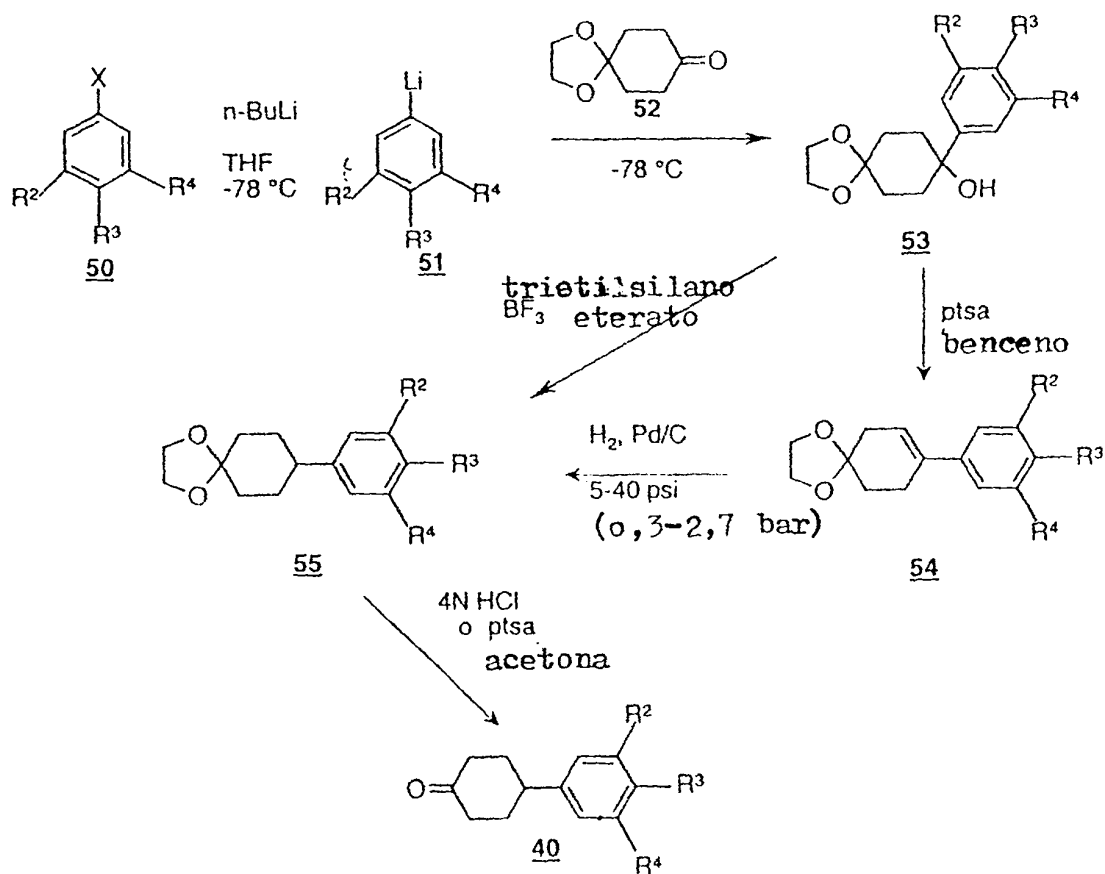


ES 2 304 128 T3

Esquema J



Esquema K



R^2, R^3 y R^4 son como se definen anteriormente.

ES 2 304 128 T3

Esquema L

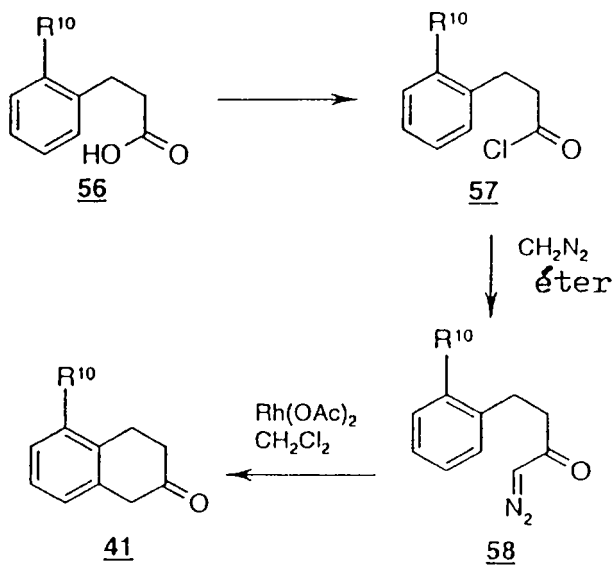
5

10

15

20

25



30

Esquema M

35

40

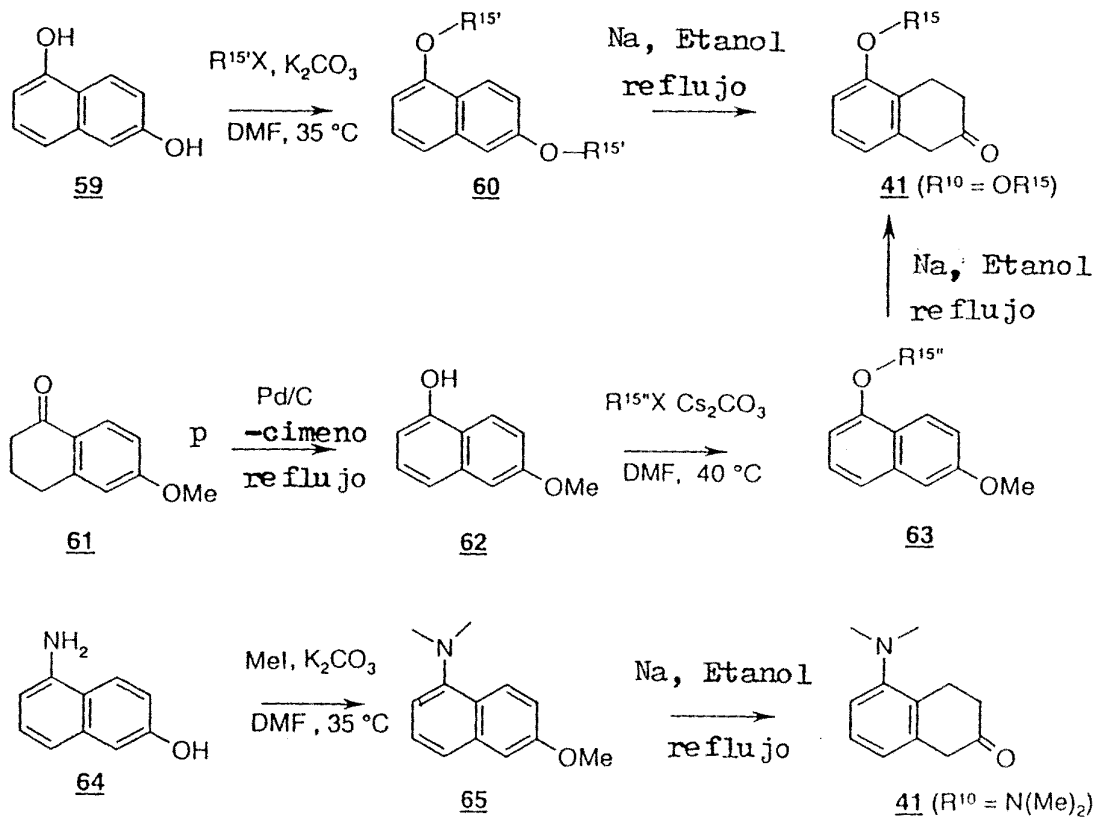
45

50

55

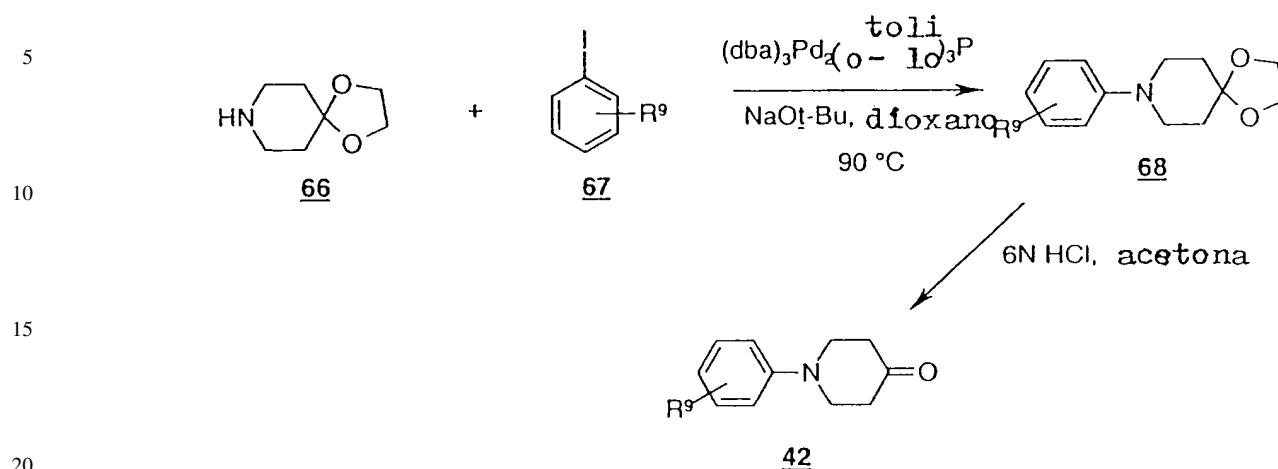
60

65



ES 2 304 128 T3

Esquema N



25 R^9 es como se define anteriormente.

30 Los péptidos sintéticos de la presente invención se preparan usando metodología de síntesis peptídica de fase sólida convencional, discutida en la sección previa. Cada ciclo consiste de dos procedimientos: la disociación inicial del grupo protector Fmoc del nitrógeno terminal en la cadena ligada a la resina, seguido de acilación de la función amina con un aminoácido protegido con Fmoc. El ciclo generalmente se lleva a cabo de acuerdo con los procedimientos en forma de pasos que se representan en el Protocolo 1. La desprotección se efectúa usando una base orgánica, por ejemplo, piperazina, morfolina o piperidina, con preferencia piperidina en un solvente inerte adecuado, por ejemplo, N,N-dimetilformamida (DMF) o N-metilpirrolidona (NMP). La reacción de acoplamiento se puede llevar a cabo por una de las muchas condiciones desarrolladas para la formación de enlace de amida, por ejemplo, O-benzotriazol-1-il N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HBTU) en presencia de una base orgánica, por ejemplo, diisopropiletamina (DIPEA) en un solvente inerte, por ejemplo, DMF. Alternativamente, en el presente caso, el grupo amida se puede formar usando una carbodiimida, por ejemplo, diisopropilcarbodiimida (DIC) junto con un agente activante tal como 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) en un solvente inerte adecuado tal como DMF.

40 En el Esquema A, en el primer ciclo, la Fmoc-Conector-BHA Resina representada por la estructura 1 es desprotegida y condensada con aminoácidos Fmoc de estructura 2, para dar los compuestos ligados a resina de estructura 3. Un segundo ciclo incorpora los aminoácidos Fmoc 4, para dar los compuestos de estructura 5 ($n = 1$). Los compuestos de estructura 5 en los cuales $n = 0$ se preparan eliminando el primer ciclo, y acoplado aminoácidos Fmoc de estructura 4 directamente a la Fmoc-Conector-BHA Resina desprotegida. En el tercer ciclo, el tratamiento del péptido ligado a resina suministra los intermediarios de estructura 6a donde R^6 representa hidrógeno. Los intermediarios de estructura 6b donde R^6 representa metilo se sintetizan como se muestra en el Esquema C. Los compuestos de estructura 6a, preparados tratando los compuestos de estructura 5 como se describe en los pasos 1-5 del Protocolo 1, se hacen reaccionar con un cloruro de arilsulfonilo, con preferencia, cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo. La reacción se lleva a cabo en presencia de un aceptor de protón, por ejemplo, piridina, trietilamina (TEA) o DIPEA, con preferencia DIPEA, en un solvente inerte adecuado, con preferencia DMF. La N-metilación del grupo sulfonamida formado en los compuestos ligados a resina lavanda de estructura 19, se efectúa bajo condiciones de Mitsunobu. Así, las sulfonamidas de estructura 19 se hacen reaccionar con metanol en presencia de dietil azodicarboxilato (DEAD) y trifetilfosfina, usando metanol como solvente. Luego de que la reacción se completa, la N-metilsulfonamida ligada a resina de estructura 20 se lava para liberarse de reactivos residuales y subproductos. El residuo de 2-nitrobenzenosulfonilo es separado haciendo reaccionar 20 con 2-mercaptoetanol y la base orgánica fuerte 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) en un solvente adecuado, con preferencia DMF, para dar el intermedio ligado a resina de estructura 6b. El tercer ciclo se completa acoplado compuestos ya sea de estructura 6a o 6b con Fmoc-Arg(Pmc)-OH (7), para dar los compuestos ligados a resina de estructura 8. Se llevan a cabo dos ciclos adicionales (Esquema B) en los péptidos de estructura 8, donde el aminoácido Fmoc-(D)-Phe-OH (9), seguido por cualquiera de los dos aminoácidos derivados de estructura 10 u 11, son incorporados en forma secuencial en el péptido ligado a resina, para dar los polipéptidos ligados a resina de las estructuras 12 y 13.

65 La remoción del Fmoc de los polipéptidos ligados a resina 12 se lleva a cabo por medio del tratamiento de 12 con piperidina en DMF, para dar los compuestos de estructura 14, usando las condiciones de reacción representadas en los Pasos 1-5 del Protocolo 1. El polipéptido luego es N-cubierto por medio de la reacción con un agente acilante, para formar las amidas ligadas a resina de estructura 15, o por reacción con un isocianato para formar ureas de estructura 16 (Esquema D). La acilación se lleva a cabo bajo una variedad de métodos bien conocidos para una persona experta en el arte. Entre los métodos utilizados se encuentran:

ES 2 304 128 T3

(i) reacción de los compuestos de estructura 14 con un ácido carboxílico R^1-CO_2H en un solvente adecuado, tal como DMF, en presencia de HBTU y una base orgánica, con preferencia DIPEA y

5 (ii) reacción de los compuestos de estructura 14 con un cloruro de ácido carboxílico R^1-COCl en un solvente adecuado, tal como diclorometano, en presencia de una base orgánica, tal como piridina, TEA y DIPEA, con preferencia DIPEA y

10 (iii) reacción de los compuestos de estructura 14 con un anhídrido de ácido carboxílico ($R^1-CO_2CO-R^1$ en un solvente adecuado, tal como diclorometano o DMF, en presencia de una base orgánica, con preferencia DIPEA.

La reacción de los compuestos de estructura 14 con un isocianato R^1-NCO se lleva a cabo en un solvente adecuado, tal como diclorometano o DMF, en presencia de una base orgánica, con preferencia DIPEA.

15 Cuando se completan las reacciones de acilación y formación de urea, los productos ligados a resina 15 y 16 son lavados para liberarse de reactivos residuales y subproductos. Usando las mismas condiciones, los polipéptidos ligados a resina de estructura 13 son convertidos en los compuestos N-acilados de estructura 17, y en las ureas de estructura 18 (Esquema E). En el Esquema F, la secuencia se lleva a cabo como en el Esquema A, excepto que Fmoc-Glu(alil)-OH (21) se incorpora en el polipéptido ligado a resina, en lugar de Fmoc-Arg(Pmc)-PH (7), para dar los polipéptidos N-cubiertos ligados a resina de estructura 22. El grupo alilo es separado por tratamiento de 22 con hidruro de tributilestano, cloruro de paladio y trifenilfosfina en un solvente inerte, por ejemplo, DMF, para dar el polipéptido ligado a resina de estructura 23. El acoplamiento de 23 con Boc-guanidina proporcionó los compuestos ligados a resina de acilguanidina de estructura 24. La reacción se puede llevar a cabo usando métodos de reacción de formación de amida estándares, por ejemplo, en presencia de HBTU y una base orgánica, con preferencia DIPEA, en un solvente adecuado, tal como DMF.

25 En el Esquema G, la secuencia se lleva a cabo como en el Esquema A, excepto que Fmoc-FenilhomArg-OH (25) o Fmoc-citrulina (26) se incorpora en el polipéptido ligado a resina, en lugar de Fmoc-Arg(Pmc)-OH (7), para dar los polipéptidos N-cubiertos ligados a resina de las estructuras 27 y 28, respectivamente.

30 Como se muestra en el Esquema H, la disociación de los grupos protectores remanentes en los polipéptidos N-cubiertos 15-18, 24, 27 y 28 y la disociación concomitante de los péptidos del soporte sólido se lleva a cabo usando un ácido orgánico fuerte, con preferencia ácido trifluoroacético, opcionalmente en presencia de un solvente inerte tal como diclorometano y un vestigio (1%) de agua. La reacción se lleva a cabo convenientemente con o sin la presencia de uno o más depuradores de carbocationes, por ejemplo, etanoditiol, dimetil sulfuro, trietilsilano y anisol. La solución de disociación de polipéptidos se filtra para liberarse del soporte sólido, luego se diluye con un solvente adecuado, con preferencia éter dietílico. Los polipéptidos sólidos de las estructuras 29-25 producidos de esta manera son purificados por cromatografía de fase inversa, sobre una columna C18 preparativa. Si fuera conveniente, en aquellos casos donde un Fmoc-aminoácido racémico 11 es secuenciado en el polipéptido, los estereoisómeros individuales son separados durante el procedimiento de purificación. Los aminoácidos Fmoc 2, 4, 7, 9, 21, 25 y 26, así como también los agentes acilantes e isocianatos utilizados para N-cubrir a los polipéptidos, son compuestos conocidos que se encuentran comercialmente disponibles.

Los aminoácidos Fmoc 10 y 11 se preparan como se describe en la presente por los métodos que son bien conocidos para aquellos expertos en la práctica de la química orgánica. En el Esquema I, se representa la preparación de aminoácidos Fmoc a partir de cetonas cíclicas. Las 4-fenilciclohexanonas de fórmula 36 son convertidas en hidantoínas de fórmula 37, por tratamiento con carbonato de amonio y cianuro de potasio. La reacción se lleva a cabo convenientemente en una mezcla de etanol acuosa, a una temperatura de desde 50°C a 90°C, con preferencia entre 80°C y 90°C. La hidrólisis directa de las hidantoínas a los aminoácidos de estructura 38 requiere un prolongado tratamiento con base fuerte, por ejemplo, con solución de hidróxido de sodio 6 N o con hidróxido de bario, a temperatura de reflujo. Alternativamente, los compuestos de estructura 37 se pueden convertir en los derivados bis-Boc de estructura 39. La reacción se lleva a cabo usando dicarbonato de ter-butilo [(Boc)₂O] en un solvente inerte, con preferencia tetrahidrofurano (THF), en presencia de una base de amina orgánica, con preferencia TEA y un catalizador, 4-dimetilaminopiridina (DMAP), a una temperatura de desde cero grado hasta temperatura ambiente, con preferencia a temperatura ambiente. Las hidantoínas bis-Boc de estructura 39 son fácilmente convertidas en los aminoácidos de estructura 38. La reacción se efectúa usando hidróxido de sodio 1 N en un solvente inerte, con preferencia dimetoxietano (DME) a desde cero grado a 50°C, con preferencia a aproximadamente temperatura ambiente. La protección de la funcionalidad amino con un grupo Fmoc en un compuesto de estructura 38 se lleva a cabo bajo una variedad de condiciones de reacción, para dar 40. La reacción se puede efectuar convenientemente por tratamiento de una solución del aminoácido 38 en una mezcla de THF o dioxano, con preferencia dioxano y carbonato de sodio acuoso con 9-fluorenilmetoxicloroformiato (FmocCl), a una temperatura de desde cero grado hasta temperatura ambiente, con preferencia a temperatura ambiente. Alternativamente, se agrega N-(9-fluorenilmetoxicarboniloxi)succinimida (FmocOSu) a una solución del aminoácido 38 en acetonitrilo acuoso que contiene una base de amina terciaria orgánica, con preferencia TEA. La reacción se hace a desde cero grado hasta temperatura ambiente, con preferencia a temperatura ambiente. En otra variación del procedimiento, DME se evapora de la mezcla de hidrólisis en la conversión de 39 a 38, y la reacción se ajusta a ~ pH 11. La solución resultante de la sal sódica de 38 luego se trata *in situ* con FmocOSu o FmocCl en dioxano, a una temperatura desde cero grado hasta temperatura ambiente, con preferencia a temperatura ambiente.

ES 2 304 128 T3

De la misma manera, las tetralonas 41, las N-aril-4-cetopiperidinas 42 y los derivados de ciclohexanona 43 y 44 son convertidos en los correspondientes aminoácidos Fmoc de las estructura 11 y 45-47.

Los compuestos de la estructura 40 donde R^3 representa un alcoxi inferior lineal o ramificado y R^2 y R^4 son hidrógeno, como en la estructura de subgénero 49, se puede preparar por 0-alquilación del compuesto de la estructura 48 (Esquema J). Cuando R^{16} representa una porción alquilo inferior no ramificada, la alquilación se lleva a cabo usando un haluro de alquilo primario de estructura $R^{16}X$, en presencia de un carbonato metálico alcalino, por ejemplo, carbonato de sodio o potasio. El haluro de alquilo puede ser un derivado de cloro, bromo o yodo, con preferencia un yoduro de alquilo ($X = I$). La reacción se puede llevar a cabo convenientemente en un solvente inerte que promueva reacciones de desplazamiento de $Sn2$, por ejemplo acetona, 2-butanona o N,N-dimetilformamida, con preferencia acetona, a una temperatura de desde temperatura ambiente hasta la temperatura de reflujo de la solución, con preferencia a la temperatura de reflujo. Cuando R^{16} representa un grupo alquilo inferior ramificado, por ejemplo 2-propilo, la alquilación se lleva a cabo usando un haluro de alquilo secundario de estructura $R^{16}X$, en presencia de un carbonato metálico alcalino, por ejemplo, carbonato de potasio. El haluro de alquilo secundario con preferencia es un yoduro de alquilo secundario, por ejemplo, 2-yodopropano ($X = I$). La reacción se puede llevar a cabo convenientemente en un solvente inerte, con preferencia, N,N-dimetilformamida, a una temperatura de desde temperatura ambiente a la temperatura de reflujo de la solución, con preferencia a aproximadamente 100°C.

Los compuestos de estructura 40 se pueden preparar por los métodos que son bien conocidos por el experto en la práctica de la química orgánica. Como se representa en el Esquema K, el tratamiento de los haluros de arilo de estructura 50 (X' representa bromo o yodo) con un reactivo metálico de alquilo, con preferencia t-butil litio, produce una reacción de transmetalación para proporcionar el correspondiente aril litio de estructura 51. La reacción se lleva a cabo convenientemente a -78°C, por medio de la adición de una solución del alquil litio a una solución de compuestos de estructura 50 en un solvente anhidro inerte, tal como éter dietílico o tetrahidrofurano, con preferencia tetrahidrofurano. El aril litio de estructura 51 luego se hace reaccionar *in situ* con una solución del monocetal de ciclohexano-1-m4-diona (52) en un solvente inerte adecuado, por ejemplo, tetrahidrofurano, mientras que la temperatura de la reacción se mantiene por debajo de -60°C, con preferencia a aproximadamente -78°C, para dar los carbinoles de estructura 53. Los compuestos de estructura 54 se obtienen por medio de la deshidratación de los carbinoles de estructura 53. La reacción se lleva a cabo convenientemente usando un catalizador de ácido orgánico fuerte, con preferencia, ácido p-toluensulfónico, en un solvente inerte, por ejemplo, benceno o tolueno, con preferencia benceno, a la temperatura de reflujo del solvente. El agua formada se elimina de la mezcla de reacción por medio de un aparato Dean Stark, para permitir que la reacción continúe hasta la terminación. Los compuestos de estructura 55 se producen por hidrogenación de las olefinas de estructura 54. La reacción se lleva a cabo convenientemente usando un catalizador de metal noble, por ejemplo, paladio sobre carbón, en una atmósfera de hidrógeno en un solvente inerte, por ejemplo, etanol o acetato de etilo. La hidrogenación habitualmente se lleva a cabo a temperatura ambiente y 40 psi (2,7 bar) de hidrógeno; sin embargo, si el anillo arilo en la estructura 54 contiene un grupo inclinado a la hidrogenólisis, por ejemplo, si R^2 , R^3 o R^4 representan cloro, la presión de reacción se mantiene a aproximadamente 5 psi (0,3 bar). Los compuestos de estructura 55 también se pueden obtener directamente de los carbinoles de estructura 53, por eliminación reductora del grupo hidroxilo. En esta reacción, una solución del compuesto de estructura 53 ($R^2 = R^3 = H$ y $R^4 = OMe$) en un solvente inerte, por ejemplo, diclorometano, se trata con un ácido Lewis, tal como eterato de trifluoruro de boro y un agente reductor, por ejemplo trietilsilano, a una temperatura de desde cero grado hasta temperatura ambiente. La remoción del grupo protector de cetal en los compuestos de estructura 55 proporciona la cetona de fórmula 40. La reacción se lleva convenientemente a cabo en acetona o 2-butanona, con preferencia acetona, bajo catálisis ácida, por ejemplo, ácido clorhídrico 4 N o ácido p-toluensulfónico, a desde temperatura ambiente a la temperatura de reflujo de la mezcla de reacción, con preferencia a la temperatura de reflujo.

Las 5-sustituido-beta-tetralonas de estructura 41 son compuestos generalmente conocidos, o si no son conocidos, se pueden preparar por métodos que son bien conocidos para una persona experta en el campo de la química orgánica. En el presente caso, los compuestos de la estructura 41 se preparan por dos métodos representados en los Esquemas L y M.

Como se muestra en el Esquema L, un ácido hidrocinámico 2-sustituido de estructura 56 ($R^{10} =$ bromo, cloro o un grupo alquilo lineal o ramificado de desde 1 a 3 carbonos) es convertido en el correspondiente cloruro de ácido carboxílico de estructura 57. Esta conversión se puede llevar a cabo por varios métodos, por ejemplo, por tratamiento del ácido hidrocinámico con cloruro de oxalilo, opcionalmente en presencia de una cantidad catalítica de N,N-dimetilformamida, en un solvente inerte, tal como benceno o diclorometano, con preferencia diclorometano. La reacción puede ser llevada a cabo convenientemente a una temperatura de desde cero grado hasta temperatura ambiente, con preferencia a temperatura ambiente. Alternativamente, el compuesto de estructura 56 se hace reaccionar con un reactivo formador de cloruro de acilo, tal como cloruro de sulfurilo, en un solvente inerte, por ejemplo, benceno o tolueno, con preferencia tolueno, a una temperatura entre temperatura ambiente a la temperatura de reflujo de la solución, con preferencia a la temperatura de reflujo.

La diazocetona de estructura 58 se prepara por tratamiento del así formado haluro de acilo de estructura 57 en un solvente inerte, por ejemplo, diclorometano, con un exceso de una solución etérea recientemente preparada de diazometano. La combinación de reactivos se lleva a cabo convenientemente a temperatura de baño de hielo, y la reacción luego se deja proceder a una temperatura de desde cero grado hasta temperatura ambiente, con preferencia a temperatura ambiente. La ciclización de la diazocetona de estructura 58 para suministrar la tetralona de estructura 41 se promueve por dinero de rodio (II) acetato en un solvente inerte, por ejemplo, diclorometano. La reacción se lleva

ES 2 304 128 T3

a cabo normalmente a desde temperatura ambiente hasta la temperatura de reflujo de la solución, con preferencia a la temperatura de reflujo.

Los compuestos de estructura 41 en donde R¹⁰ representa un grupo alcoxi inferior lineal o ramificado o un sustituyente de dialquilamino, se preparan como se muestra en el Esquema M. Los compuestos de estructura 60 (R^{15'} = una porción alquilo inferior no ramificada) se preparan por per-O-alquilación del naftalenodiol de estructura 59 con un bromuro o yoduro de alquilo primario, con preferencia un yoduro, en presencia de una base tal como un carbonato metálico alcalino, por ejemplo, carbonato de sodio o potasio. La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, con preferencia N,N-dimetilformamida, a una temperatura de desde temperatura ambiente a 100°C, con preferencia a 35°C. Los compuestos de estructura 63 (R^{15''} representa un alquilo inferior ramificado) se preparan en dos pasos, a partir de la 2-tetralona de estructura 61. La tetralona de estructura 61 se somete a deshidrogenación en presencia de un catalizador de metal noble, tal como metal paladio (10% sobre carbón) en un solvente de alta ebullición adecuado, tal como p-cimeno, para suministrar el compuesto aromatzado de estructura 62. El naftol de estructura 62 luego es O-alquilado con un yoduro de alquilo secundario, en presencia de una base tal como un carbonato metálico alcalino, con preferencia carbonato de cesio, para suministrar el compuesto de estructura 62. La reacción se puede llevar a cabo convenientemente en un solvente inerte, con preferencia N,N-dimetilformamida, a una temperatura de desde temperatura ambiente a 100°C, con preferencia a aproximadamente 40°C. El compuesto de estructura 65 se prepara por alquilación de 5-amino-2-naftol (64) con yoduro de metilo, en presencia de una base tal como un carbonato metálico alcalino, con preferencia carbonato de potasio. La reacción se puede llevar a cabo en un solvente inerte, por ejemplo, acetona o 2-butanona, con preferencia acetona, a una temperatura entre temperatura ambiente y la temperatura de reflujo de la solución, con preferencia a la temperatura de reflujo.

Las tetralonas de las estructuras 41 son producidas por reducción de los compuestos de las estructuras 60, 63 y 65 bajo condiciones metálicas de disolución, seguido de la hidrólisis catalizada ácida de los enol éteres intermedios. La transformación se lleva a cabo convenientemente por medio de la adición en forma de porciones de un exceso grande de un metal alcalino, tal como sodio o potasio, con preferencia sodio, a una solución en ebullición del sustrato en un alcohol inferior, con preferencia alcohol hasta que el material inicial se consume. Las tetralonas de las estructuras 41 se obtienen por medio del tratamiento de una solución de los enol éteres intermedios aislados con un catalizador ácido fuerte, con preferencia ácido p-toluensulfónico. La hidrólisis se puede llevar a cabo convenientemente en una mezcla de un alcohol inferior, con preferencia etanol, y agua, a una temperatura de entre temperatura ambiente y la temperatura de reflujo de la solución, con preferencia a la temperatura de reflujo.

Los compuestos de estructura 68 se pueden preparar por reacciones que son conocidas *per se*. Por ejemplo, se pueden preparar por acoplamiento de una amina secundaria de estructura 66 con un yoduro o bromuro de arilo, con preferencia un yoduro de arilo de estructura 67 (Esquema N). La reacción de acoplamiento es catalizada por un catalizador de metal noble con preferencia tri(dibencilidenoacetona)-dipaladio, en presencia de un ligando de fosfina quelante, con preferencia tri-*o*-tolilfosfina y una base de alcóxido obstaculizada tal como *ter*-butóxido de sodio. La reacción se lleva a cabo convenientemente en una atmósfera inerte, usando un solvente anhídrido tal como dioxano o tolueno, con preferencia dioxano, a una temperatura de 60°C a la temperatura de reflujo, con preferencia a 90°C. Los compuestos de estructura 56 y 66 son compuestos generalmente conocidos, y se pueden obtener de fuentes comerciales. La separación del grupo protector de carbonilo en el compuesto 67, para suministrar los compuestos de estructura 42 se puede llevar a cabo por una variedad de métodos bien conocidos en el campo de la química orgánica. Por ejemplo, la desprotección se puede lograr por medio del tratamiento de una solución de compuesto 68 en una cetona de ebullición baja, tal como acetona o 2-butanona, con una solución de ácido mineral acuosa, por ejemplo, ácido clorhídrico 6 N. La reacción se puede efectuar a una temperatura entre temperatura ambiente y la temperatura de reflujo de la mezcla, con preferencia a la temperatura de reflujo.

Los derivados de ciclohexanona de las estructuras 63 son compuestos comercialmente disponibles, y la 4,4-difenilciclohexanona (64) se prepara por medio de procedimientos publicados.

La invención además se refiere a un proceso para la preparación de compuestos como se describen anteriormente, cuyo proceso comprende disociar un compuesto como se describe anteriormente, que está ligado a un soporte sólido, de dicho soporte sólido, con un ácido. Dichos procesos se describen anteriormente, por ejemplo, en el esquema H, y además son bien conocidos para la persona experta en el arte, por ejemplo, también de la literatura citada en esta memoria descriptiva. Con preferencia, el ácido con el cual se efectúa la disociación mencionada anteriormente, es ácido trifluoroacético. La disociación se puede llevar a cabo en un solvente, tal como por ejemplo, diclorometano, con un trazo opcional (aproximadamente 1%) de agua. La disociación se puede llevar a cabo con un depurador tal como, por ejemplo, etanoditiol, dimetil sulfuro, trietilsilano o anisol. Los soportes sólidos adecuados son bien conocidos por la persona experta en el arte, por ejemplo, por literatura citada en esta memoria descriptiva, y también son comercialmente disponibles. La preparación de compuestos como se definen anteriormente, que están ligados a un soporte sólido, se describe, por ejemplo, en los esquemas anteriores y en los ejemplos. Los grupos protectores pueden ser separados, por ejemplo, un grupo Pmc de un grupo guanidino, al mismo tiempo durante la disociación mencionada anteriormente. La invención además se refiere a compuestos como se definen anteriormente, cuando son fabricados por un proceso como se define anteriormente.

Los compuestos como se describen anteriormente se pueden usar como medicamentos, por ejemplo, en forma de preparaciones farmacéuticas para administración enteral, parenteral o tópica. Se pueden administrar, por ejemplo, en forma peroral, por ejemplo, en forma de tabletas, tabletas revestidas, grageas, cápsulas de gelatina dura y blanda,

soluciones, emulsiones o suspensiones, en forma rectal, por ejemplo, en forma de supositorios, en forma parenteral, por ejemplo, en forma de soluciones en inyección o soluciones de infusión, o en forma tópica, por ejemplo, en forma de ungüentos, cremas o aceites.

5 La producción de las preparaciones farmacéuticas se puede efectuar en una manera que será conocida para cualquier persona experta en el arte, dando a los compuestos como se describen anteriormente, opcionalmente en combinación con otras sustancias de valor terapéutico, una forma de administración galénica junto con materiales portadores sólidos o líquidos, terapéuticamente compatibles, inertes no tóxicos, adecuados, y si fuera deseado, adyuvantes farmacéuticos habituales.

10 Los materiales portadores adecuados no son sólo materiales portadores inorgánicos, sino también materiales portadores orgánicos. Así, por ejemplo, se pueden usar lactosa, almidón de maíz o derivados del mismo, talco, ácido esteárico o sus sales, como materiales portadores para tabletas, tabletas revestidas, grageas y cápsulas de gelatina dura. Los materiales portadores adecuados para las cápsulas de gelatina blanda son, por ejemplo, aceites vegetales, ceras, grasas y polioles líquidos y semisólidos (de acuerdo con la naturaleza del ingrediente activo, sin embargo, no se requieren portadores en el caso de las cápsulas de gelatina blanda). Los materiales portadores adecuados para la producción de soluciones y jarabes son, por ejemplo, agua, polioles, sacarosa, azúcar invertido y similares. Los materiales portadores adecuados para las soluciones de inyección son, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol y aceites vegetales. Los materiales portadores adecuados para supositorios son, por ejemplo, aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas y polioles líquidos o semilíquidos. Los materiales portadores adecuados para las preparaciones tópicas son glicéricos, glicéridos sintéticos y semisintéticos, aceites hidrogenados, ceras líquidas, parafinas líquidas, alcoholes grasos líquidos, esteroides, polietilenglicoles y derivados de celulosa.

25 Los estabilizantes, preservantes, agentes humectantes y emulsionantes, agentes para mejorar la consistencia, agentes para mejorar el sabor, sales para variar la presión osmótica, sustancias amortiguadoras, solubilizantes, colorantes y agentes enmascarantes y antioxidantes habituales se tienen en consideración como adyuvantes farmacéuticos.

30 La dosificación de los compuestos como se describen anteriormente puede variar dentro de amplios límites, de acuerdo con la enfermedad a ser controlada, la edad y la condición individual del paciente, y el modo de administración, y naturalmente, será adaptada a los requerimientos individuales en cada caso particular. Para pacientes adultos, se tiene en consideración una dosificación diaria de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg, especialmente aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500 mg. De acuerdo con la dosificación, es conveniente administrar la dosificación diaria en varias unidades de dosificación.

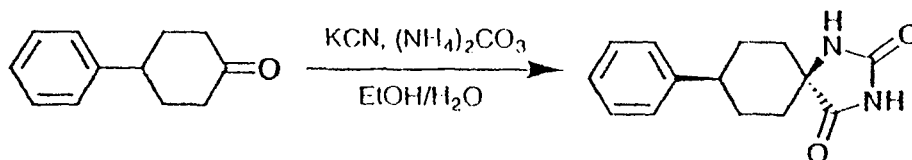
35 Las preparaciones farmacéuticas convenientemente contienen aproximadamente 1-500 mg, con preferencia 5-200 mg de un compuesto como se describe anteriormente.

40 Esta invención se comprenderá mejor con referencia a los siguientes ejemplos, que ilustran pero no limitan la invención que se describe en la presente.

Ejemplo 1

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-fenilciclohexano-1-carboxílico (Fmoc-Apc-OH)

Paso 1

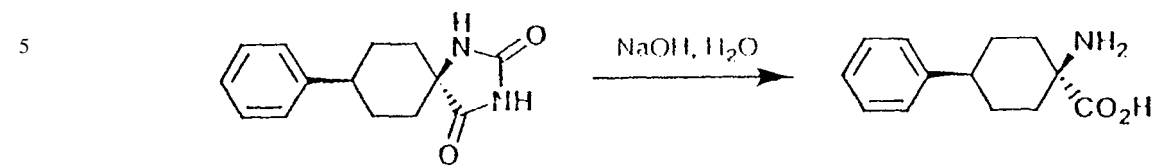


60 A una solución de 4-fenilciclohexanona (10,0 g, 57,5 mmol) en etanol (100 ml) y agua (33 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (33 g, 344 mmol, 6 equiv.) y cianuro de potasio (5,6 g, 86,2 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 24 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (400 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó a fondo con agua y se secó, para producir la hidantoína como un sólido blanco (14,0 g, 100% rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆): 8,63 (s, 1H), 7,23-7,36 (m, 4), 7,15 (m, 1), 2,50 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 1,85 (d, 1H) y 1,55-1,80 (m, 6H).

65

ES 2 304 128 T3

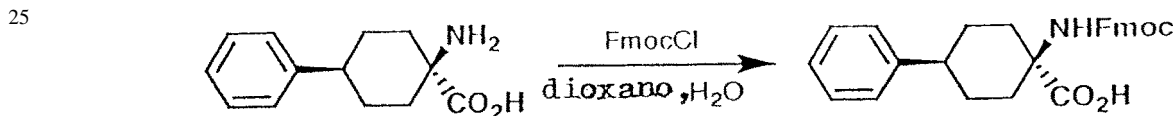
Paso 2



15 La hidantoína (10,0 g) se suspendió en NaOH acuoso (6N, 350 ml) y se calentó a 130°C durante 2-3 días. Al completarse la hidrólisis, la mezcla de reacción se neutralizó con HCl conc. a levemente ácido (pH ~6). La suspensión resultante se filtró, se lavó con agua y se secó, para dar ácido 1-amino-4-fenilciclohexano carboxílico (APC) como un sólido blanco (25 g, > 100% rendimiento, contaminado con sal inorgánica) el que usó directamente para el siguiente paso. Una pequeña porción del producto crudo se purificó en HPLC. ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,23-7,35 (m, 2), 7,10-7,19 (m, 3H), 2,45 (m, 1H), 1,92-2,18 (m, 3H), 1,56-1,78 (m, 4H) y 1,20 (m, 1H); LREM (electrospray) m/e 220 (M + 1)⁺, Calc. para C₁₃H₁₇NO₂, 219.

20

Paso 3



35 El APC crudo del último paso (25 g) se trató con Fmoc-Cl (13,2 g, 1,25 equiv.) en dioxano (300 ml) y Na₂CO₃ al 10% acuoso (150 ml) y se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró para separar el dioxano, se neutralizó con HCl 6N a levemente ácido (pH 5-6) y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. La separación del solvente proporcionó el producto crudo, el que luego fue purificado en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc a CH₂Cl₂/MeOH), para dar Fmoc-cis-APC puro (18,2 g, 72% rendimiento total para dos pasos) y Fmoc-trans-APC (2,1 g, 8%). La estructura de cis Fmoc-APC fue confirmada por análisis de rayos X de cristales individuales de su derivado. Fmoc-cis-APC, ¹H RMN (CD₃OD): 7,79 (d, 2H), 7,37 (t, 2), 7,24-7,32 (m, 4), 7,14-7,23 (m, 3), 4,37 (d, 2H), 4,24 (t, 1H), 2,55 (m, 1H), 2,28 (m, 2H), 1,84-1,96 (m, 2H) y 1,64-1,73 (m, 4H).

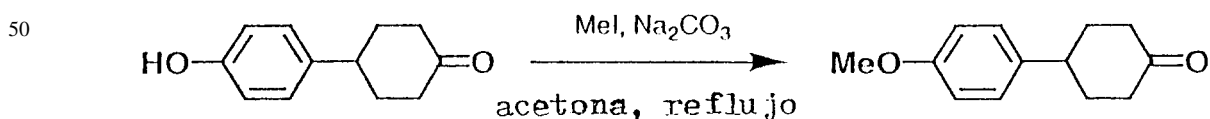
40

Ejemplo 2

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-(4-metoxifenil)ciclo-hexano-1-carboxílico (Fmoc-4-MeOapc-OH)

45

Paso 1

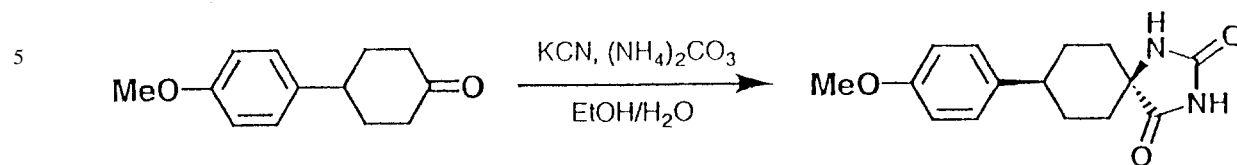


60 Una solución de 4-(4-hidroxifenil)ciclohexanona (5,0 g, 26,3 mmol) en acetona (100 ml) se trató con K₂CO₃ (14,5 g, 105 mmol, 4 equiv.) y yodometano (4,9 ml, 11,2 g, 78,6 mmol, 3 equiv.). la reacción se calentó a 65°C durante la noche. Luego de que se eliminó el solvente, el residuo se trató con H₂O y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío, para proporcionar la 4-(4-metoxifenil)ciclohexanona espectroscópicamente pura (5,34 g, 100%), ¹H RMN (CDCl₃) 7,16 (dt, 2H), 6,87 (dt, 2H), 3,78 (s, 3H), 2,99 (tt, 1H), 2,47-2,53 (m, 4H), 2,20 (m, 2H) y 1,84-1,98 (m, 2H); EM (electrospray) m/e, 205 (M + 1)⁺, Calc. para C₁₃H₁₆O₂, 204.

65

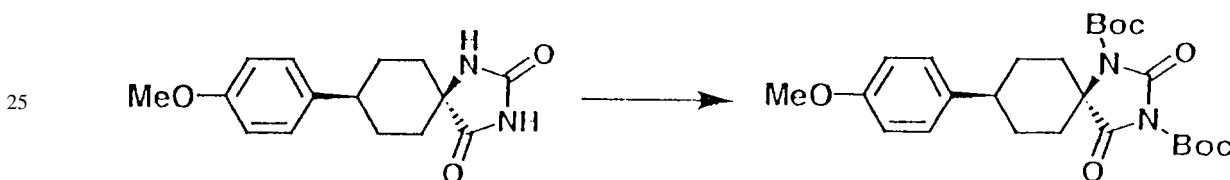
ES 2 304 128 T3

Paso 2



15 A una solución de la cetona (3,86 g, 18,9 mmol) en etanol (50 ml) y agua (15 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (14,5 g, 151 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (2,0 g, 30,7 mmol, 1,6 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 24 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (300 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó a fondo con agua y se secó, para producir la hidantoína como un sólido blanco (4,75 g, 91% rendimiento). EM (Electrospray) m/e 273 (M-H), Calc. para C₁₅H₁₈N₂O₃, 274.

Paso 3

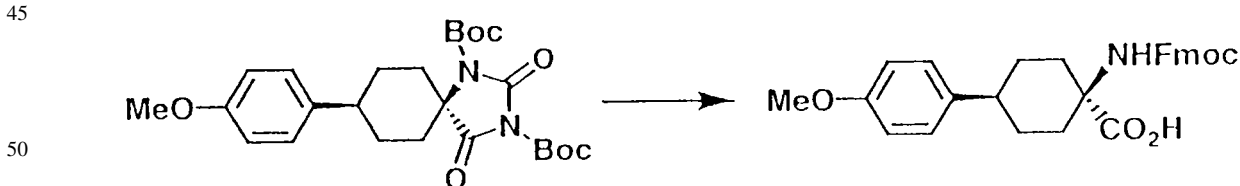


30 A una suspensión de la hidantoína (18,7 g, 68,25 mmol) en THF seco (450 ml) se agregaron di-ter-butyl dicarbonato (37,2 g, 170,5 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (10,5 ml, 7,59 g, 75,0 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (460 mg, 3,65 mmol) en sucesión. Aproximadamente 15 minutos luego de la adición, la reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para rendir un sólido que luego fue tomado en EtOAc (800 ml), lavado con HCl 1 N (3 x 50 ml), Na₂CO₃ acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (2 x 50 ml), secado sobre Na₂SO₄ anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 70/30), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (27,6 g, 87%). ¹H RMN (CDCl₃): 7,28 (dt, 2H), 6,88 (dt, 2H), 3,79 (s, 3H), 2,14-2,24 (m, 2H), 1,59 (s, 9H) y 1,38 (s, 9H); EM (electrospray) m/e 538 (M + MeCN + Na)⁺, Calc. Para C₂₅H₃₄N₂O₇, 474.

35

40

Paso 4



55 La bis-Boc hidantoína (15,08 g, 31,78 mmol) se disolvió en DME (500 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (290 ml, 290 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla levemente turbia. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 1-amino-4-(4-metoxifenil)-ciclohexano carboxílico (4-MeOAPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. A esta solución (~ 300 ml) se agregaron DME (300 ml) y una solución de Fmoc-OSu (16,7 g, 49,42 mmol) en DME (200 ml) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME, se acidificó con HCl 3 N, se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (CH₂Cl₂/MeOH, 98/2 → 90/10), para dar el producto puro Fmoc-4-MeOAPC como un sólido blanco (12,4 g, 83% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (DSO-d₆): 7,88 (d, 2H), 7,76 (d, 2H), 7,40 (t, 2H), 7,30 (t, 2H), 7,11 (d, 2H), 6,85 (d, 2H), 3,71 (s, 3H); EM (electrospray) m/e 470 (M-H), Calc. Para C₂₉H₂₉NO₅, 471.

60

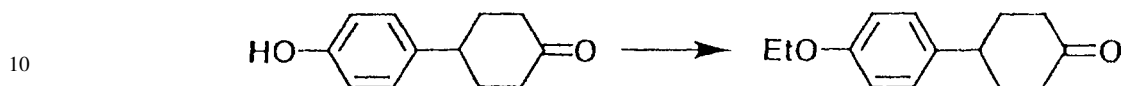
65

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 3

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-(4-etoxifenil)ciclo-hexano-1-carboxílico (Fmoc-4-EtOapc-OH)

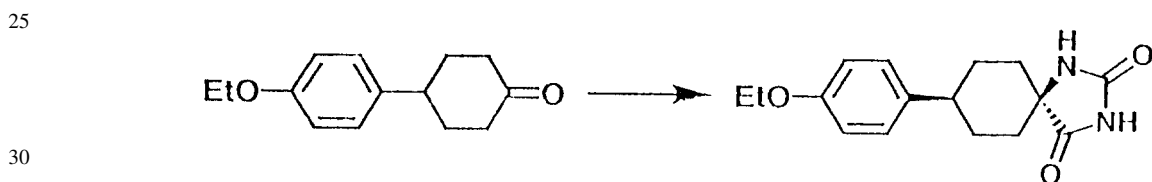
5 Paso 1



15 Una solución de 4-(4-hidroxifenil)ciclohexanona (5,0 g, 26,3 mmol) en acetona (100 ml) se trató con K_2CO_3 (14,5 g, 105 mmol, 4 equiv.) y yodoetano (10,5 ml, 20,5 g, 131 mmol, 5 equiv.). La reacción se calentó a $65^\circ C$ durante la noche. Luego de que se eliminó el solvente, el residuo se trató con H_2O y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío, para proporcionar la 4-(4-etoxifenil)ciclohexanona espectroscópicamente pura (5,74 g, 100%). 1H RMN ($CDCl_3$) 7,15 (dt, 2H), 6,86 (dt, 2H), 4,02 (q, 2H), 2,99 (tt, 1H), 2,46-2,54 (m, 4H), 2,16-2,24 (m, 2H) 1,83-2,00 (m, 2H) y 1,41 (t, 3H); EM (electrospray) m/e, 219 ($M + 1$)⁺, Calc. para $C_{14}H_{18}O_2$, 218.

20

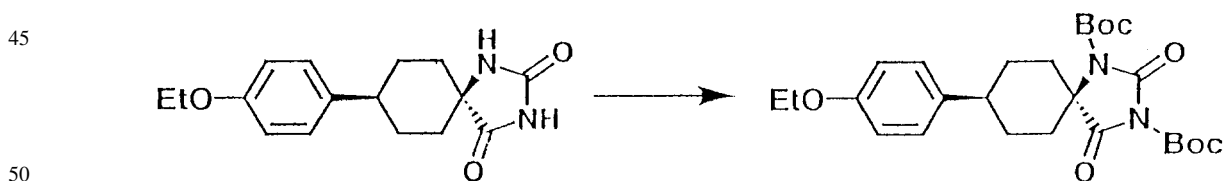
Paso 2



35 A una solución de la cetona (4,15 g, 19,01 mmol) en etanol (50 ml) y agua (15 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (14,5 g, 1,51 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (2,05 g, 31,42 mmol, 1,6 equiv.). La mezcla se calentó a $80-90^\circ C$ durante 19 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (300 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó completamente con agua y se secó, para producir la hidantoína como un sólido blanco (5,17 g, 94% rendimiento). EM (electrospray) m/e 287 (M-H), Calc. para $C_{16}H_{20}N_2O_3$, 288.

40

Paso 3

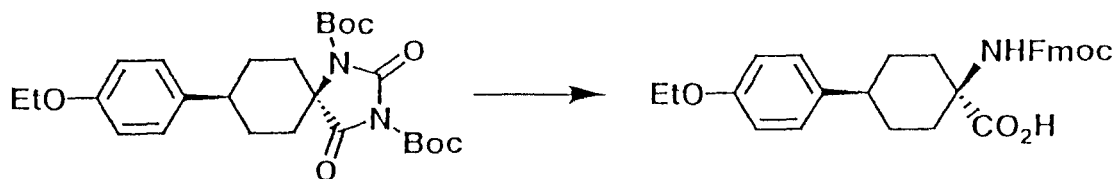


55 A una suspensión de la hidantoína (4,22 g, 14,65 mmol) en THF seco (100 ml) se agregaron di-ter-butil dicarbonato (7,98 g, 36,60 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (2,3 ml, 1,63 g, 16,11 mmol, 1,1 equiv-) y DMAP (89,4 mg, 0,73 mmol) en sucesión. Aproximadamente 15 minutos después de la adición, la reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para rendir un sólido que luego fue tomado en EtOAc (300 ml), lavado con HCl 1 N (3 x 20 ml), Na_2CO_3 acuoso saturado (2 x 20 ml) y salmuera (2 x 20 ml), secado sobre Na_2SO_4 anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 \rightarrow 70/30), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (7,01 g, 98%). 1H RMN ($CDCl_3$): 7,27 (dt, 2H), 6,87 (dt, 2H), 4,02 (q, 2H), 1,59 (s, 9H), 1,43 (t, 3H) y 1,38 (s, 9H); EM (electrospray) m/e 999 ($2M + Na$)⁺, Calc. Para $C_{26}H_{36}N_2O_7$, 488.

60

65

Paso 4



15 La bis-Boc hidantoína (6,58 g, 13,46 mmol) se disolvió en DME (200 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (121 ml, 121 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla levemente turbia. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 1-amino-4-(4-etoxi-enil)ciclohexano carboxílico (4-EtOAPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. A esta solución (~ 130 ml) se agregaron DME (100 ml) y una solución de Fmoc-OSu (6,83 g, 20,24 mmol) en DME (30 ml), y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME, se acidificó con HCl 3 N, se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (CH₂Cl₂/MeOH, 98/2 → 90/10), para dar el producto puro como un sólido blanco (5,56 g, 85% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,88 (d, 2H), 7,74 (d, 2H), 7,40 (td, 2H), 7,30 (td, 2H), 7,11 (d, 2H), 6,84 (d, 2H), 3,97 (q, 2H) y 1,29 (t, 3H); EM (electrospray) m/e 484 (M-H), Calc. para C₃₀H₃₁NO₅, 485.

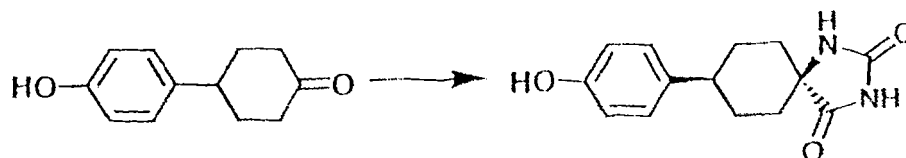
20

25

Ejemplo 4

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-(4-hidroxifenil)ciclo-hexano-1-carboxílico (Fmoc-4-HOOApc-OH)

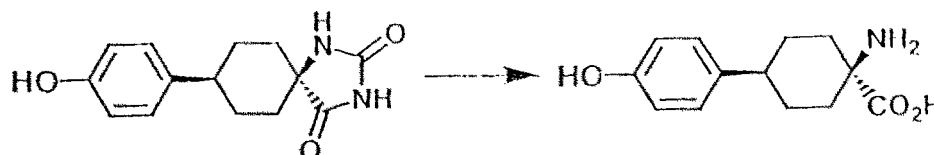
Paso 1



45 A una solución de 4-(4-hidroxifenil)ciclohexanona (2,00 g, 10,52 mmol) en etanol (30 ml) y agua (10 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (6,17 g, 64,2 mmol, 6 equiv.) y cianuro de potasio (1,07 g, 15,8 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante la noche. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (200 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó a fondo con agua y se secó, para producir la hidantoína como un sólido blanco (2,56 g, 94% rendimiento). EM (electrospray) m/e 261 (M+H)⁺, Calc. para C₁₄H₁₆N₂O₃, 260.

50

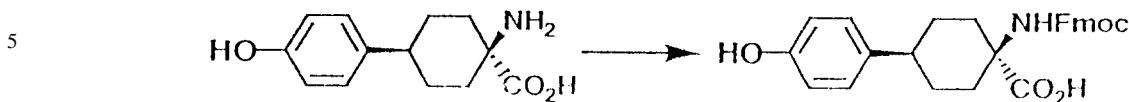
Paso 2



65 La hidantoína (2,10 g, 8,06 mmol) se suspendió en NaOH acuoso (6N, 100 ml) y se calentó a 130°C durante 2-3 días. Al finalizar la hidrólisis, la mezcla de reacción se neutralizó con HCl conc. a levemente ácido (pH ~ 6). La suspensión resultante se filtró, se lavó con agua y se secó, para dar ácido 1-amino-4-(4-hidroxifenil)ciclohexano carboxílico (4-HOAPC) como un sólido blanco (3,1 g > 100% rendimiento, contaminado con sal inorgánica). EM (electrospray) m/e 236 (M+H)⁺, Calc. para C₁₃H₁₇NO₃, 235.

ES 2 304 128 T3

Paso 3



10 El APC crudo del último paso (3,1 g) se trató con Fmoc-Cl (2,6 g, 1,25 equiv.) en dioxano (100 ml) y Na_2CO_3 al 10% acuoso (50 ml) y se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró para separar dioxano, se neutralizó con HCl 6 N a levemente ácido (pH 5-6) y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na_2SO_4 . La eliminación del solvente proporcionó el producto crudo, el cual fue purificado en cromatografía instantánea (hexano/AtOAc a $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), para dar Fmoc-4-
15 HOAPC puro (2,76 g, 75% rendimiento total para dos pasos). ^1H RMN (CD_3OD): 7,78 (d, 2H), 7,72 (d, 2H), 7,38 (t, 2H), 7,30 (td, 2H), 7,04 (d, 2H), 6,72 (dt, 2H), 4,38 (d, 2H), 4,25 (t, 1H), 2,46 (m, 1H), 2,24-2,34 (m, 2H) y 1,81-1,92 (m, 6H); EM (electrospray) m/e 456 (M-H), Calc. para $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{NO}_5$, 457.

Ejemplo 5

20 *Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-(4-isopropoxifenil) ciclohexano-1-carboxílico (Fmoc-4-iPrOapc-OH)*

Paso 1

25

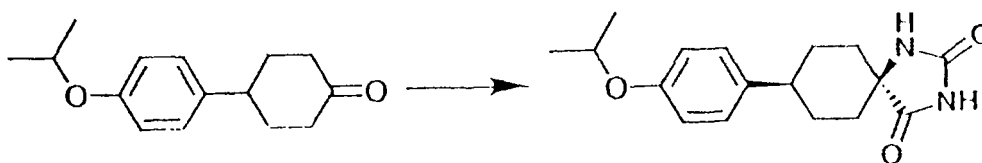


30

35 Una solución de 4-(4-hidroxifenil)ciclohexanona (6,0 g, 31,6 mmol) en DMF (90 ml) se trató con K_2CO_3 (21 g, 158 mmol, 5 equiv.) y 2-yodopropano (15 ml, 26,8 g, 158 mmol, 5 equiv.). La reacción se calentó a 100°C durante la noche. Luego de que se eliminó el solvente, el residuo se trató con H_2O y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron al vacío, para proporcionar la 4-(4-isopropoxifenil)ciclohexanona espectroscópicamente pura (7,02 g, 95%). ^1H RMN (CDCl_3) 7,14 (dt, 2H), 6,84 (dt, 2H), 4,3 (septeto, 1H), 2,97 (tt, 1H), 2,46-2,52 (m, 4H), 2,16-2,24 (m, 2H), 1,83-1,98 (m, 2H) y 1,33 (d, 6H).

Paso 2

40

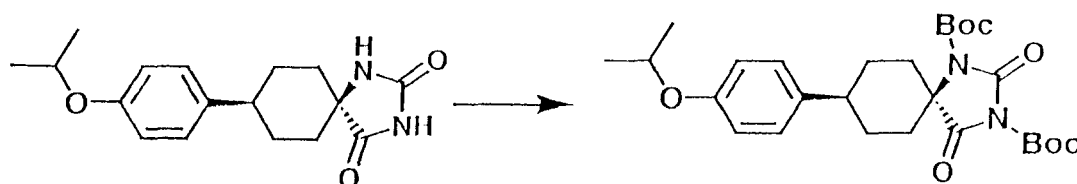


50

55 A una solución de la cetona (5,1 g, 21,98 mmol) en etanol (90 ml) y agua (30 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (12,6 g, 131 mmol, 6 equiv.) y cianuro de potasio (2,14 g, 32,9 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla se calentó a $80-90^\circ\text{C}$ durante 24 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (400 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó a fondo con agua y se secó, para producir la hidantoína como un sólido blanco (6,60 g, 99% rendimiento). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): 10,60 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 7,18 (d, 2H), 6,80 (d, 2H), 4,52 (septeto, 1H), 2,43 (m, 1H), 1,85-2,15 (m, 2H), 1,56-1,80 (m, 6H) y 1,22 (d, 6H); EM (electrospray) m/e 301 (M-H), Calc. Para $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$, 302.

Paso 3

60

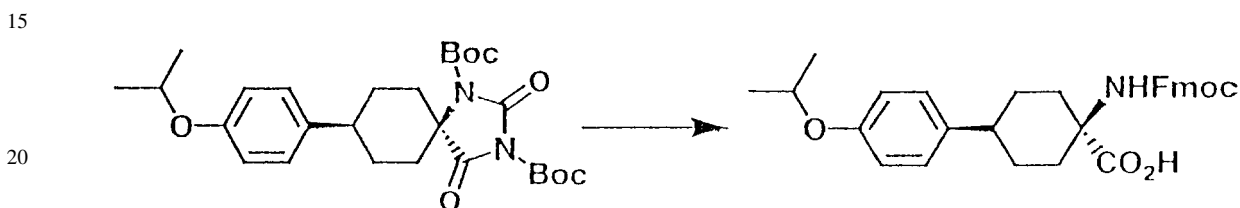


65

ES 2 304 128 T3

A una suspensión de la hidantoína (5,8 g, 19,20 mmol) en THF seco (180 ml) se agregaron di-ter-butil dicarbonato (10,46 g, 48,0 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (2,9 ml, 2,13 g, 21,12 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (140 mg, 1,15 mmol) en sucesión. Aproximadamente 15 minutos luego de la adición, la reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para dar un sólido que luego fue tomado en EtOAc (600 ml), lavado con HCl 1N (3 x 40 ml), Na₂CO₃ acuoso saturado (2 x 40 ml) y salmuera (2 x 40 ml), secado sobre Na₂SO₄ anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 80/20), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (9,4 g, 98%). ¹H RMN (CDCl₃): 7,27 (dt, 2H), 6,87 (dt, 2H), 4,02 (q, 2H), 2,98 (t, 1H), 2,26-2,56 (m, 4H), 2,14-2,24 (m, 2H), 1,76-1,86 (m, 2H), 1,59 (s, 9H), 1,43 (t, 3H) y 1,38 (s, 9H); EM (electrospray) m/e 999 (2M + Na)⁺, Calc. para C₂₆H₃₆N₂O₇, 488.

Paso 4

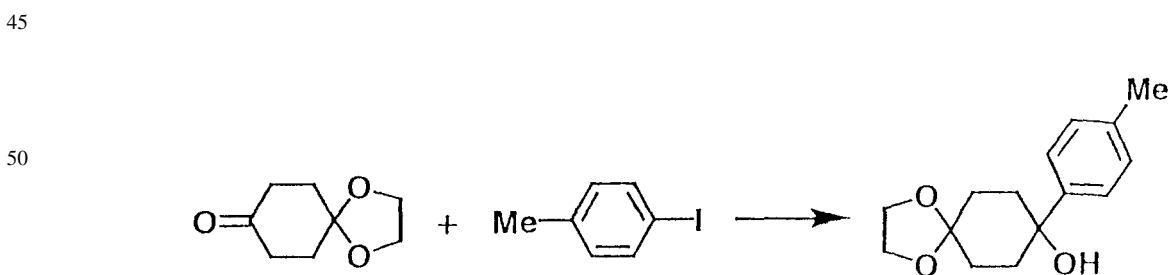


La bis-Boc hidantoína (4,34 g, 8,64 mmol) se disolvió en DME (100 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (78 ml, 78 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla bastante clara. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 1-amino-4-(4-isopropoxi-fenil)ciclohexano carboxílico (4-iPrOAPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. A esta solución (~ 90 ml) se agregaron DME (120 ml) y una solución de Fmoc-OSu (3,49 g, 10,34 mmol, 1,2 equiv-) en DME (20 ml) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME, se acidificó con HCl 3 N, se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc → CH₂Cl₂/MeOH), para dar el producto puro como un sólido blanco (3,23 g, 75% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,76 (d, 2H), 7,60 (2, 2H), 7,39 (t, 2H), 7,31 (t, 2H), 7,08 (d, 2H), 6,84 (d, 2H), 4,24 (m, 1H) y 1,34 (d, 6H); EM (electrospray) m/e 498 (M-H), Calc. para C₃₁H₃₃NO₅, 499.

Ejemplo 6

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-(4-metilfenil)ciclohexano-1-carboxílico (Fmoc-4-MeApc-OH)

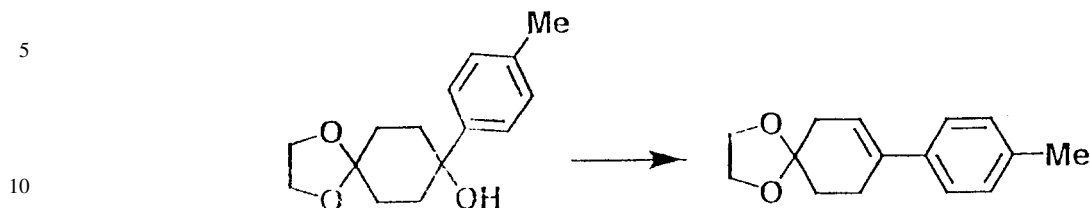
Paso 1



A una solución de 4-yodotolueno (10,9 g, 50,0 mmol) en THF seco (180 ml) a -78°C se agregó una solución de n-BuLi (1,6 M, 31,0 ml, 50 mmol) en hexano, durante 20 min. La reacción se agitó durante otros 20 min antes de que se agregara por goteo una solución de 1,4-ciclohexanodiona mono-etileno cetal (6,0 g, 38,46 mmol) en THF seco (100 ml). Después de agitar durante 2 h a -78°C, la reacción se templó con NH₄Cl acuoso y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron *in vacuo*, para dar el producto espectroscópicamente puro como un sólido blanco (9,34 g, 98% rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃): 7,41 (m, 2H), 7,16 (d, 2H), 3,98 (m, 4H), 2,34 (s, 3H); EM (EI) m/e 248 (M⁺), Calc. para C₁₅H₂₀N₃, 248

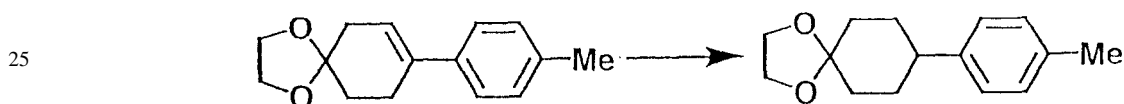
ES 2 304 128 T3

Paso 2



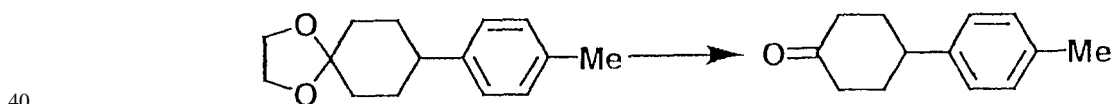
15 A una solución el alcohol (9,10 g, 36,65 mmol) en benceno seco (200 ml) en un recipiente equipado con separador Dean-Stark, se agregó ácido p-toluensulfónico, monohidrato (650 mg) y la reacción se calentó a 100°C durante 3 h. La reacción se enfrió hasta ta, se diluyó con EtOAc (500 ml) y se lavó con Na₂CO₃ acuoso (50 ml), salmuera (3 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida, para dar el producto espectroscópicamente puro (8,36 g, 199 rendimiento), el cual se usó para el próximo paso sin purificación. EM (El) m/e 230 (M⁺), 190 (M-OCH₂CH₂O), Calc. para C₁₅H₁₈O₂, Calc. para C₁₅H₁₈O₂, 230.

Paso 3



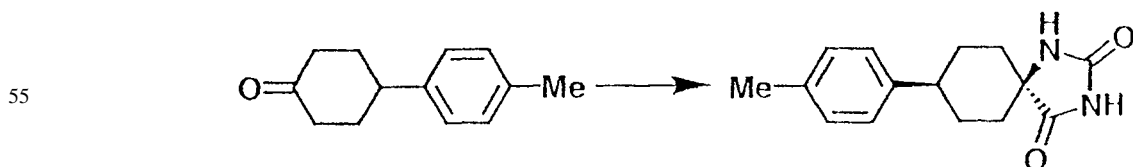
30 A una solución de la olefina (7,49 g) en EtOAc (180 ml) se agregó Pd/C (5% en peso sobre carbón, 800 mg) y la reacción se hizo bajo 40 psi (2,7 bar) de hidrógeno durante 3 horas a temperatura ambiente. El catalizador se separó por filtración y el filtrado se concentró, para dar el producto espectroscópicamente puro como un aceite incoloro (7,40 g, 100% rendimiento). EM (El) m/e 232 (M⁺), 188 (M-OCH₂CH₂), Calc. para C₁₅H₂₀O₂, 232.

Paso 4



45 Una solución del cetal (6,90 g) en acetona (140 ml) se trató con HCl 4 N (60 ml) y se calentó a 65°C durante 4 horas. El solvente se separó y el residuo se diluyó con EtOAc y se neutralizó con HCl 4 N. La fase acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron. El producto crudo resultante se usó para el próximo paso sin purificación (5,57 g, rendimiento cuantitativo). EM (El) m/e 188 (M⁺), Calc. para C₁₃H₁₆O, 188.

Paso 5

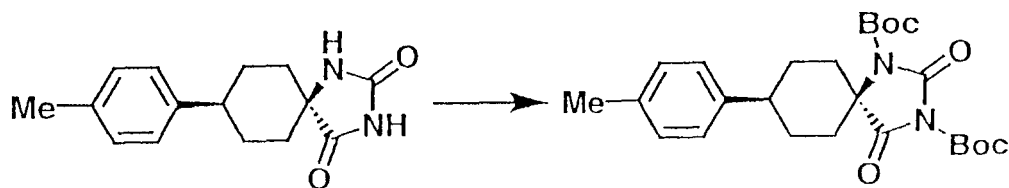


60 A una solución de 4-(4-metilfenil)ciclohexanona (5,32 g, 28,3 mmol) en etanol (90 ml) y agua (30 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (16,3 g, 169,8 mmol, 6 equiv.) y cianuro de potasio (3,68 g, 56,5 mmol, 2 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante la noche. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (400 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó completamente con agua y se secó, para producir la hidantoína como un sólido blanco (6,3 g, 86% rendimiento). EM (electrospray) m/e 517 (2M+H), Calc. para C₁₅H₁₈ClN₂O₂, 258.

65

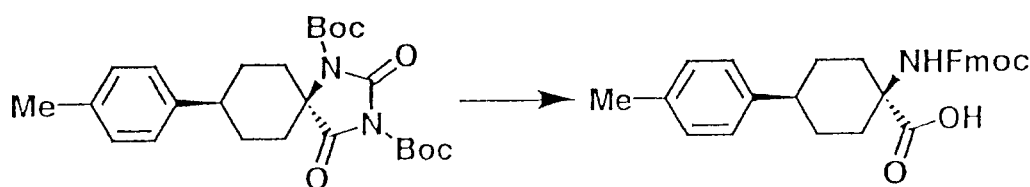
ES 2 304 128 T3

Paso 6



15 A una suspensión de la hidantoína (5,82 g, 22,55 mmol) en THF seco (250 ml) se agregaron di-ter-butil dicarbonato (12,3 g, 56,4 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (3,5 ml, 2,5 g, 24,7 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (275 mg, 2,25 mmol) en sucesión. La reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para rendir un sólido que luego fue tomado en EtOAc (500 ml), lavado con HCl 1N (3 x 50 ml), Na₂CO₃ acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (2 x 50 ml), secado sobre Na₂SO₄ anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 70/30), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (10,03 g, 100% rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃): 7,26 (dt, 2H), 6,87 (d, 2H), 3,00 (m, 1H), 2,32 (s, 3H), 1,59 (s, 9H) y 1,37 (s, 9H).

Paso 7



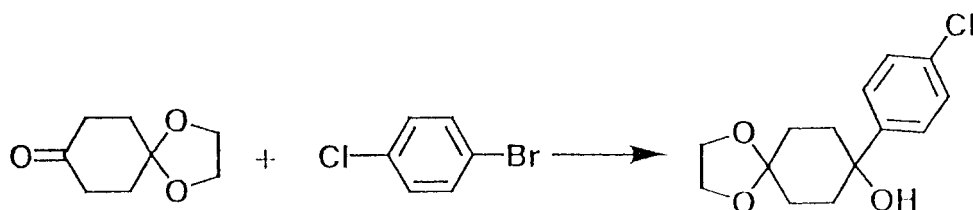
35 La bis-Boc hidantoína (6,40 g, 13,97 mmol) se disolvió en DME (200 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (120 ml, 120 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla levemente turbia. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 1-amino-4-(4-metilfenil) ciclohexano carboxílico (4-MeAPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. A esta solución (~ 140 ml) se agregaron DME (240 ml) y una solución de Fmoc-OSu (5,10 g, 15,13 mmol, 1,1 equiv.) en DME (40 ml), y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME, se acidificó con HCl 3 N, se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (CH₂Cl₂/MeOH, 98/2 → 90/10), para dar el producto puro como un sólido blanco (4,35 g, 69% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,88 (d, 2H), 7,75 (d, 2H), 7,24-7,43 (m, 4H), 7,02-7,14 (m, 4H), 4,25 (m, 3H), 2,24 (s, 3H).

40

Ejemplo 7

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-(4-clorofenil)ciclo-hexano-1-carboxílico (Fmoc-4-ClApc-OH)

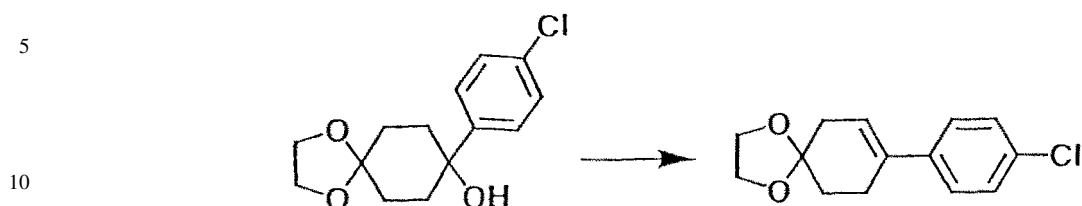
Paso 1



65 Una solución de 4-clorofenilbromuro (7,5 g, 39,2 mmol) en THF seco (180 ml) se enfrió a -78°C, y se trató por goteo con una solución de n-BuLi (1,6 M, 25 ml, 40 mmol) en hexano, durante 20 min. La reacción se agitó durante otros 30 min antes de que se agregara por goteo una solución de 1,4-ciclohexanodiona mono-etileno cetal (6,0 g, 38,46 mmol) en THF seco (100 ml). Después de agitar durante 1 h a -78°C, la reacción se templó con NH₄Cl acuoso y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron *in vacuo*, para dar el producto espectroscópicamente puro como un sólido blanco (9,40 g, 91% rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃): 7,45 (m, 2H), 7,31 (m, 2H), 3,99 (m, 4H), 2,02-2,20 (m, 4H), 1,75-1,82 (m, 2H), 1,66-1,73 (m, 2H), 1,54 (s, 1H); EM (EI) m/e 268 (M⁺), 251 (M-OH), 250 (M-H₂O), Calc. para C₁₄H₁₇ClO₃, 268.

ES 2 304 128 T3

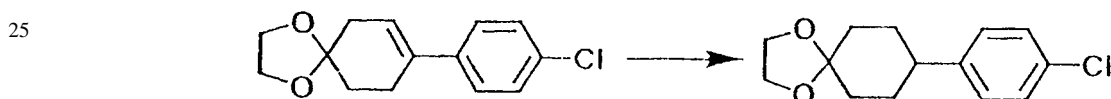
Paso 2



15 A una solución del alcohol (6,78 g, 25,30 mmol) en benceno seco (120 ml) en un recipiente equipado con sifón Dean-Stark, se agregó ácido p-toluensulfónico, monohidrato (960 mg) y la reacción se calentó a reflujo durante 3 h. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se diluyó con EtOAc (500 ml) y se lavó con Na₂CO₃ acuoso (50 ml), salmuera (3 x 50 ml), se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida, para dar el producto espectroscópicamente puro (6,30 g, 100% rendimiento), el cual se usó para el próximo paso sin purificación. EM (El) m/e 250 (M⁺), 190 (M-OCH₂CH₂O), Calc. para C₁₄H₁₅ClO₂, 250.

20

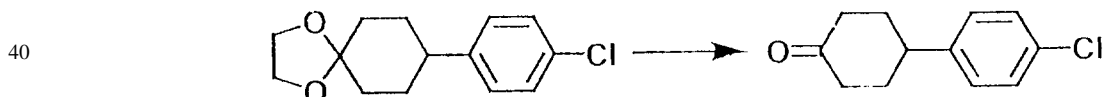
Paso 3



30 A una solución de la olefina (6,11 g) en EtOAc (120 ml) se agregó Pd/C (5-% en peso sobre carbón, 600 mg) y la reacción se realizó bajo 5 psi (0,3 bar) de hidrógeno durante 3 horas a temperatura ambiente. El catalizador se separó por filtración y el filtrado se concentró, para dar el producto espectroscópicamente puro como un aceite incoloro (6,10 g, 100% rendimiento). EM (El) m/e 252 (M⁺), Calc. para C₁₄H₁₇ClO₂, 252.

35

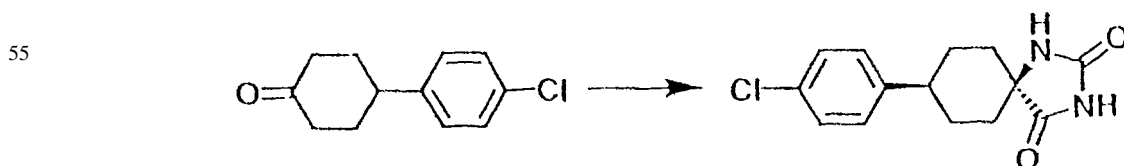
Paso 4



45 Una solución del cetal (5,81 g, 23,06 mmol) en acetona (200 ml) se trató con ácido p-toluensulfónico, monohidrato (876 mg) y se calentó a 60°C durante la noche. El solvente se eliminó y el residuo se tomó en EtOAc, se lavó con solución de Na₂CO₃ acuosa, salmuera y se concentró, para dar el producto crudo como un aceite amarillo (5,38 g, > 100% rendimiento). La purificación a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 80/20 → 60/40) proporcionó la cetona como un aceite amarillo claro (4,54 g, 95% rendimiento). EM (El) m/e 208 (M⁺), Calc. para C₁₂H₁₃ClO₂, 208.

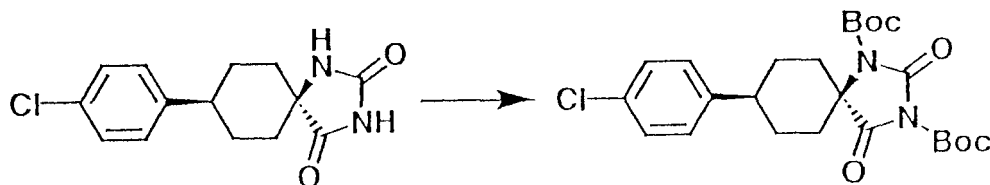
50

Paso 5



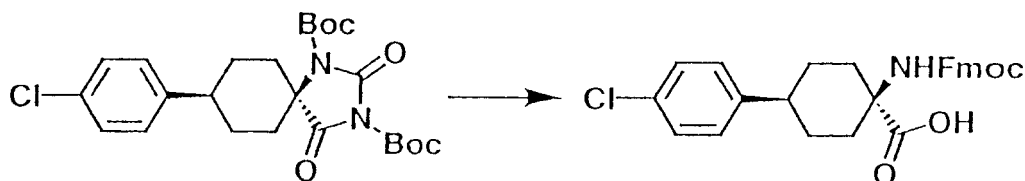
65 A una solución de 4-(4-clorofenil)ciclohexanona (4,26 g, 20,48 mmol) en etanol (90 ml) y agua (30 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (13,8 g, 144 mmol, 7 equiv.) y cianuro de potasio (3,56 g, 54,7 mmol, 2,5 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante la noche. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (400 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó a fondo con agua y se secó, para producir la hidantoina como un sólido blanco (5,58 g, 98% rendimiento). EM (electrospray) m/e 277 (M-H), Calc. para C₁₄H₁₅ClN₂O₂, 278.

Paso 6



A una suspensión de la hidantoína (5,15 g, 18,5 mmol) en THF seco (250 ml) se agregaron di-ter-butil dicarbonato (10,1 g, 46,3 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (2,8 ml, 2,07 g, 20,45 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (226 mg, 1,85 mmol) en sucesión. La reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para dar un sólido que luego fue tomado en EtOAc (500 ml), lavado con HCl 1 N (3 x 50 ml), Na₂CO₃ acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (2 x 50 ml), secado sobre Na₂SO₄ anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 70/30), para dar la bis-Boc hidantoína puro como un sólido blanco (8,05 g, 91% rendimiento). EM (electrospray) m/e 542 (M + Ma + MeCN), Calc. para C₂₄H₃₁ClN₂O₆, 478.

Paso 7

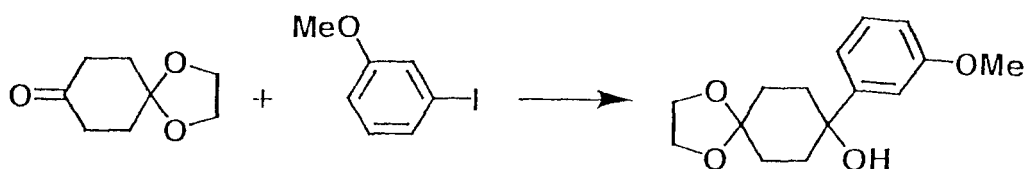


La bis-Boc hidantoína (6,41 g, 13,97 mmol) se disolvió en DME (200 ml) para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (120 ml, 120 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla levemente turbia. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 1-amino-4-(4-clorofenil)ciclohexano carboxílico (4-ClAPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. A esta solución (~ 180 ml) se agregaron DME (240 ml) y una solución de Fmoc-OSu (5,31 g, 15,74 mmol, 1,1 equiv.) en DME (30 ml) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME, se acidificó con HCl 3N, se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (CH₂Cl₂/MeOH, 98/2 → 90/10), para dar el producto puro como un sólido blanco (5,04 g, 76% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,88 (d, 2H), 7,74 (d, 2H), 7,19-7,42 (m, 8H), 4,20-4,31 (m, 3H); EM (electrospray) m/e 484 (M-H), Calc. para C₂₈H₂₆ClNO₄, 475.

Ejemplo 8

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-(3-metoxifenil)ciclohexano-1-carboxílico (Fmoc-3-MeOApC-OH)

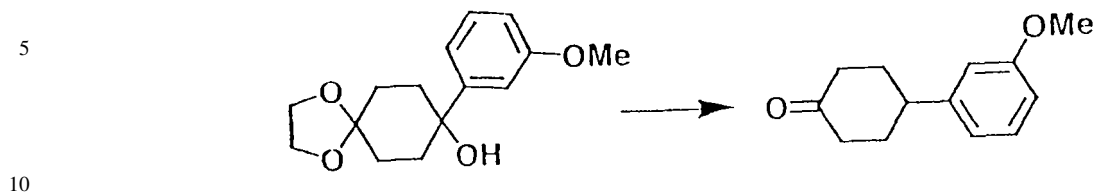
Paso 1



A una solución de 3-yodoanisol (11,7, 50,0 mmol, 1,3 equiv.) en THF seco (180 ml) a -78°C se agregó una solución de n-BuLi (1,6 M, 31,0 ml, 50 mmol, 1,3 equiv.) en hexano durante 25 min. La reacción se agitó durante otros 30 min, antes de que se agregara por goteo una solución de 1,4-ciclohexanodiona mono-etileno cetal (6,0 g, 38,46 mmol) en THF seco (100 ml). Después de agitar durante 2 h a -78°C, la reacción se templó con NH₄Cl acuoso y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se concentraron *in vacuo*, para dar el producto espectroscópicamente puro como un sólido blanco (9,34 g, 98% rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃): 7,26 (dd, 1H), 7,06-7,11 (m, 2H), 6,79 (dd, 1H), 3,98 (m, 4H), 3,81 (s, 3H).

ES 2 304 128 T3

Paso 2

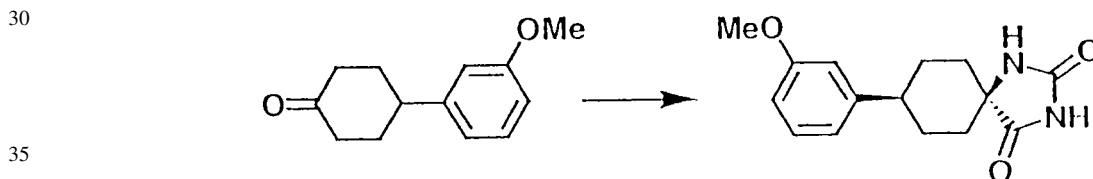


15 A una solución agitada del alcohol (5,6 g, 21,21 mmol) en CH_2Cl_2 seco (200 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno a temperatura de baño de sal-hielo, se agregaron en sucesión trietilsilano (10,2 ml, 7,4 g, 63,63 mmol, 3 equiv.) y trifluoruro de boro eterato (21,5 ml, 24,1 g, 169,7 mmol, 8 equiv.). La mezcla de reacción entonces se dejó calentar hasta temperatura ambiente, y se agitó durante 3 horas antes de ser lavada con solución de K_2CO_3 acuosa al 10% y H_2O , secada sobre Na_2SO_4 y concentrada *in vacuo*, para dar el compuesto de desoxigenación como un aceite (4,91 g), el cual fue suficientemente puro para el uso directo.

20 Este intermediario crudo se disolvió en acetona (130 ml) y se trató con HCl 4 N (60 ml) y se calentó a 65°C durante 4 horas. El solvente se eliminó bajo presión reducida y el residuo se diluyó con EtOAc y se neutralizó con solución de NaOH 4 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía instantánea sobre gel de sílice (80/20 \rightarrow 60/40), para dar la cetona (3,67 g, 85% rendimiento total) como un aceite amarillo. ^1H RMN (CDCl_3): 7,25 (dt, 1H), 6,75-6,86 (m, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,00 (tt, 1H); EM (EI) m/e 204 (M^+), Calc. para $\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{O}_2$, 204.

25

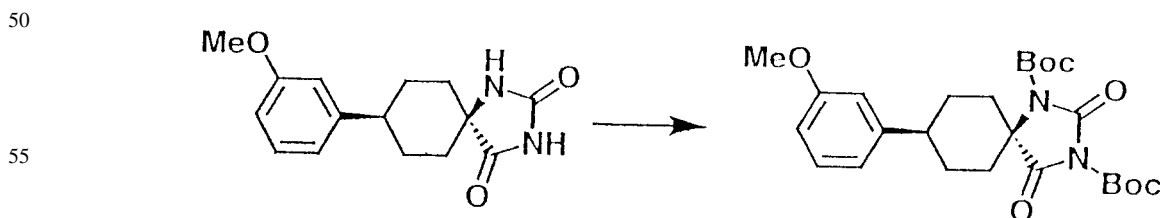
Paso 3



40 A una solución de 4-(3-metoxifenil)ciclohexanona (3,10 g, 15,20 mmol) en etanol (60 ml) y agua (20 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (8,75 g, 91,20 mmol, 6 equiv.) y cianuro de potasio (1,98 g, 30,40 mmol, 2 equiv.). La mezcla se calentó a $80\text{-}90^\circ\text{C}$ durante la noche. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (300 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó completamente con agua se secó, para producir la hidantoína como un sólido blanco (4,08 g, 98% rendimiento). ^1RMN ($\text{DMSO}-d_6$): 7,11 (d, 1H), 6,70-6,94 (m, 3H), 3,72 (s, 3H; EM (electrospray) m/e 316 ($\text{M}^+\text{MeCN}+\text{H}$), Calc. para $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_3$, 274.

45

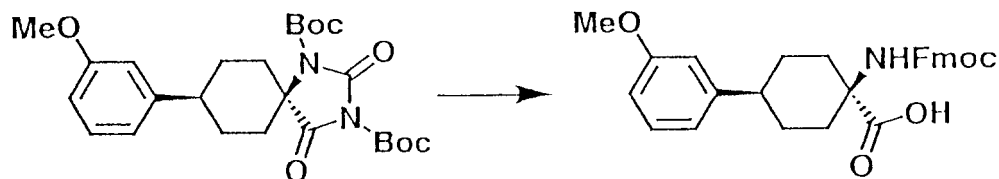
Paso 4



60 A una suspensión de la hidantoína (5,29 g, 19,30 mmol) en THF seco (250 ml) se agregaron di-ter-butil dicarbonato (10,5 g, 48,16 mmol, 2,5 equiv.) trietilamina (3,0 ml, 2,17 g, 21,52 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (235 mg, 1,92 mmol) en sucesión. La reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para dar un sólido que luego fue tomado en EtOAc (500 ml), lavado con HCl 1 N (3 x 50 ml), Na_2CO_3 acuoso saturado (2 x 50 ml) y salmuera (2 x 50 ml), secado sobre Na_2SO_4 anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 80/20 \rightarrow 60/40), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (8,70 g, 95% rendimiento). EM (electrospray) m/e 5438 ($\text{M} + \text{MeCN} + \text{Na}$), Calc. para $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_7$, 474.

65

Paso 5



10

La bis-Boc hidantoína (2,30 g, 4,84 mmol) se disolvió en DME (80 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (44 ml, 44 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla levemente turbia. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 1-amino-4-(3-metoxifenil)ciclohexano carboxílico (3-MeOAPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. A esta solución (~ 40 ml) se agregaron dioxano (80 ml) y Fmoc-Cl (1,73 g, 6,76 mmol, 1,14 equiv.), y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME, se neutralizó con HCl 3 N, se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea en gel de sílice (CH₂Cl₂/MeOH, 98/2 → 90/10), para dar el producto puro como un sólido blanco (1,98 g, 87% rendimiento a partir de bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,88 (d, 2H), 7,75 (d, 2H), 7,40 (td, 2H), 7,30 (td, 2H), 7,21 (m, 1H), 6,71-6,80 (m, 3H), 3,72 (s, 3H); EN (electrospray) m/e 494 (M + Na), Calc. para C₂₉H₂₉NO₅, 471.

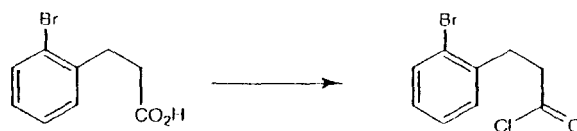
25

Ejemplo 9

Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-bromo-2-aminotetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)5-Br-Atc-OH)

30

Paso 1

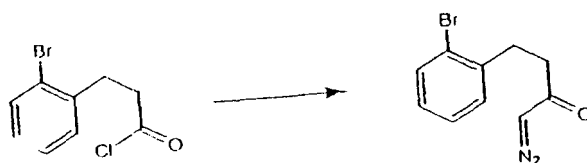


35

Una mezcla de ácido 3-(2-bromofenil)propanoico (preparado en 2 pasos a partir de 2-bromobencil bromuro, 2,0 g, 8,73 mmol), cloruro de oxalilo (1,14 ml, 13,1 mmol) y cloruro de metileno (20 ml) se enfrió en un baño de hielo, y se agregó N,N-dimetilformamida (34 μl, 0,44 mmol) por goteo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La concentración al vacío proporcionó cloruro de 3-(2-bromofenil)propanoilo, el cual se tomó en cloruro de metileno y se usó en el próximo paso como un crudo.

45

Paso 2



50

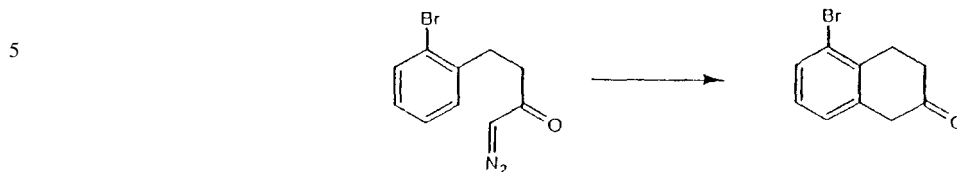
55

Una solución del cloruro ácido anterior (crudo 8,73 mmol) en cloruro de metileno se agregó lentamente a una solución de diazometano (generado a partir de 5,70 g de 1-metil-3-nitro-1-nitrosoguanidina) en éter (40 ml) enfriado en un baño de hielo. La mezcla luego se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de columna (10 → 20% acetato de etilo/hexanos), para dar 1-diazo-4-(2-bromofenil)butan-2-ona (1,88 g, 85% en dos pasos). ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,50 (1H,d, fenilo), 7,24 (2H, m, fenilo), 7,06 (1H, m, fenilo), 5,21 (1H, s amplio, diazo), 3,05 (2H, t, bencilico), 2,62 (2H, m).

65

ES 2 304 128 T3

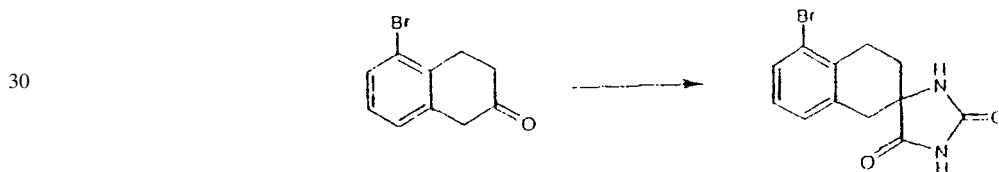
Paso 3



15 A una mezcla de acetato de rodio (II) dímero (15 mg, 0,68 mmol) en cloruro de metileno (120 ml) bajo reflujo se agregó lentamente una solución de 1-diazo-4-(2-bromofenil)butan-2-ona (1,74 g, 6,85 mmol) en cloruro de metileno (30 ml). Después de que se completó la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante veinte minutos más. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó ácido trifluoroacético (1,5 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La reacción se templó con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas se separaron y la capa de cloruro de metileno se lavó una vez más con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas inversamente con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío, para dar un aceite marrón. La purificación por cromatografía de columna (10 → 15% acetato de etilo/hexanos) proporcionó 5-bromo-β-tetralona (1,18 g, 77% rendimiento) como un aceite incoloro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,46 (1H, t, fenilo), 7,05-7,09 (2H, m, fenilo), 3,58 (2H, s, bencílico), 3,22 (2H, t, bencílico), 2,54 (2H, t).

20

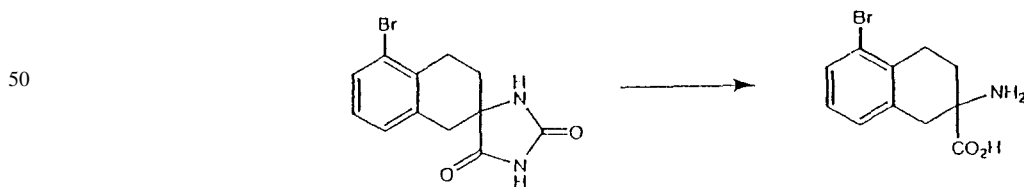
25 Paso 4



Una mezcla de 5-bromo-β-tetralona (1,18 g, 5,24 mmol), cianuro de potasio (512 mg, 7,86 mmol), carbonato de amonio (3,0 g, 31,22 mmol), etanol (25 ml) y agua (5 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 4 días. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión blanca se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó la hidantoína (1,31 g, 85%). ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 10,71 (1H, amplio, NH), 8,28 (1H, amplio s, NH), 7,0-7,5 (3H, m, fenilo). LREM (Electrospray): C₁₂H₁₁BrN₂O₂, Cal. 294; observado: 293 (M-H), 295 (M-H).

40

45 Paso 5

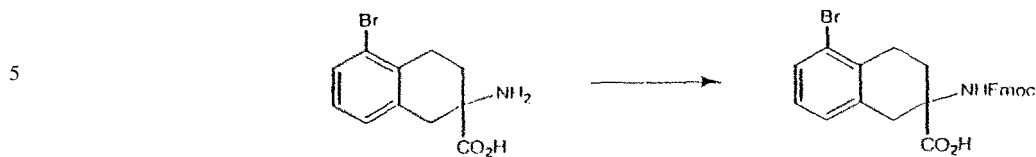


Una mezcla de hidantoína (1,287 g, 4,36 mmol), Ba(OH)₂ · H₂O (4,20 g, 22,2 mmol) en agua (25 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 125°C durante 4 días. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se acidificó a ~pH 3 usando ácido sulfúrico 4N, mientras que se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante una hora, y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío a ~ 20 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitado blanco, el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al vacío durante la noche, para dar ácido 5-bromo-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (893 mg, 76% rendimiento). LREM (Electrospray): C₁₁H₁₂BrNO₂, calc. 269; observado: 270 (M+H), 272 (M+H), 268 (M-H), 270 (M-H).

60

65

Paso 6



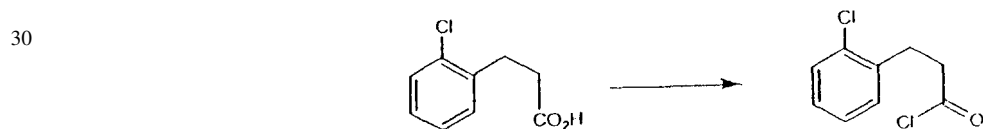
10 Una mezcla de ácido 5-bromo-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (882 mg, 3,27 mmol), trietilamina (0,60 ml, 4,30 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 1,32 g, 3,91 mmol) en acetonitrilo (30 ml) y agua (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El análisis TLC de la reacción al día siguiente indicó la presencia de material de partida aminoácido. Se agregaron carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (0,25 g, trietilamina (0,6 ml) y acetonitrilo (5 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otro día. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH ~3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10%, y la emulsión blanca se extrajo dos veces con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 2 → 5 → 10% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-bromo-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (1,09 g, 68%), como un sólido blanco. HREM (FAB): $C_{26}H_{22}BrNNaO_4$ (M+Na) calc. 514,0630; observado: 514,0643.

20

Ejemplo 10

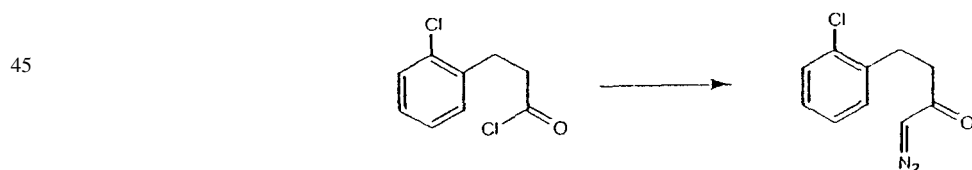
25 *Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-cloro-2-aminotetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)5-ClAtc-OH)*

Paso 1



35 Una mezcla de ácido 3-(2-clorofenil)propanoico (5,0 g, 27,1 mmol), cloruro de tionilo (10,9 ml, 149 mmol) y tolueno (75 ml) se sometió a reflujo durante dos horas. La concentración al vacío proporcionó cloruro de 3-(2-clorofenil)propanoilo, el cual se tomó en cloruro de metileno y se usó en el próximo paso sin otra purificación.

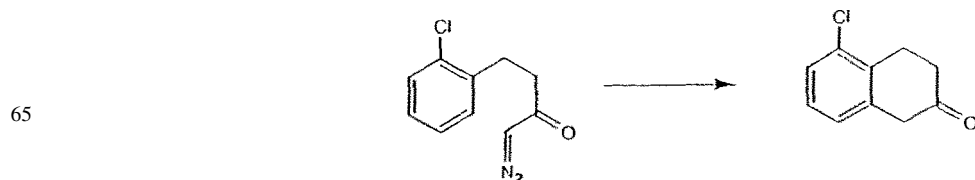
Paso 2



50 Una solución del cloruro ácido anterior (crudo, 27,1 mmol) en cloruro de metileno se agregó lentamente a una solución de diazometano (generado a partir de 17,8 g de 1-metil-3-nitro-1-nitrosoguanidina) en éter (120 ml) enfriado en un baño de hielo. La mezcla luego se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró al vacío, para dar 1-diazo-4-(2-clorofenil)butan-2-ona (5,87 g, >100% en dos pasos) como un aceite amarillo brillante. El compuesto se usó en el siguiente paso sin otra purificación. 1H RMN ($CDCl_3$) δ 7,05-7,32 (4H, m, fenilo), 5,13 (1H, amplio s, diazo), 3,00 (2H, t, bencílico), 2,57 (2H, m).

55

Paso 3



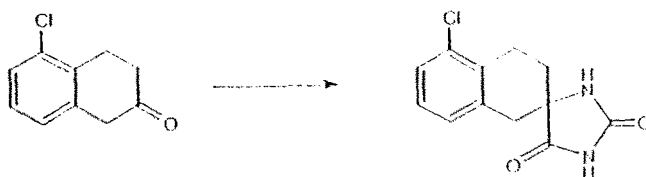
ES 2 304 128 T3

A una mezcla de acetato de rodio (II) dímero (60 mg, 0,27 mmol) en cloruro de metileno (400 ml) bajo reflujo se agregó lentamente una solución de 1-diazo-4-(2-bromofenil)butan-2-ona cruda (5,87 g, 27,1 mmol teórico) en cloruro de metileno (50 ml). Después de que se completó la adición, la mezcla se reflujo durante veinte minutos extra. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó ácido trifluoroacético (6,0 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante dos horas. La reacción se templó con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas se separaron y la capa de cloruro de metileno se lavó una vez más con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas inversamente con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío, para dar un aceite pardo. La purificación por cromatografía de columna (10 → 15% acetato de etilo/hexanos) proporcionó 5-cloro-β-tetralona (3,32 g, 68% rendimiento para los pasos a) a c) como un aceite marrón claro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,30 (1H, m, fenilo), 7,15 (1H, t, fenilo), 7,05 (1H, d, fenilo), 3,60 (2H, s, bencílico), 3,22 (2H, t, bencílico), 2,56 (2H, t).

Paso 4

15

20



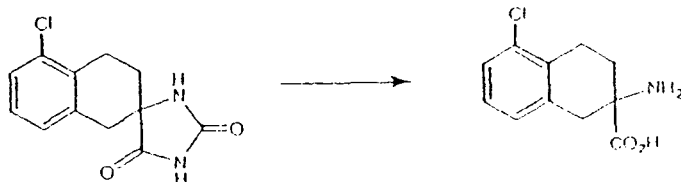
Una mezcla de 5-cloro-β-tetralona (880 mg, 4,87 mmol), cianuro de potasio (500 mg, 7,67 mmol), carbonato de amonio (2,85 g, 29,7 mmol), etanol (24 ml) y agua (6 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 66 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó hidantoína (0,92 g, 75%) como un sólido beige claro. ¹H EMN (DMSO-d₆) δ 10,70 (1H, amplio, NH), 8,25 (1H, amplio s, NH), 7,0-7,3 (3H, m, fenilo). LREM (Electrospray): C₁₂H₁₁ClN₂O₂, calc. 250; observado: 249 (M-H), 251 (M-H).

30

Paso 5

35

40



Una mezcla de hidantoína (880 mg, 3,51 mmol), Ba(OH)₂ · H₂O (3,40 g, 18,0 mmol) en agua (50 ml, demasiado diluida) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 125°C durante 2 días. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se acidificó a ~pH usando ácido sulfúrico 4N, mientras que se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante dos horas, y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío a ~50 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitado blanco, el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al vacío durante la noche, para dar ácido 5-cloro-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (788 mg, 99% rendimiento). LREM (Electrospray): C₁₁H₁₂ClNO₂, calc. 225; observado: 226 (M+H), 228 (M+H), 224 (M-H), 226 (M-H).

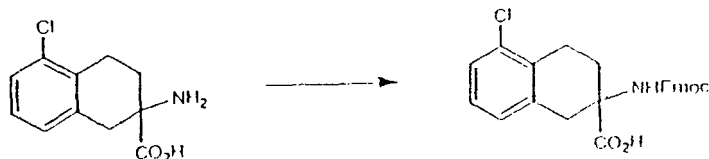
45

50

Paso 6

55

60



Una mezcla de ácido 5-cloro-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (402 mg, 1,78 mmol), trietilamina (0,38 mg, 2,73 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 904 mg, 2,68 mmol) en acetonitrilo (20 ml) y agua (20 ml) se agitó a temperatura ambiente durante dos días. El análisis TLC de la reacción luego de dos días indicó la presencia de material inicial aminoácido. Se agregaron carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (0,12 g) y trietilamina (0,1 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otro día. La mezcla de reacción se concentró

65

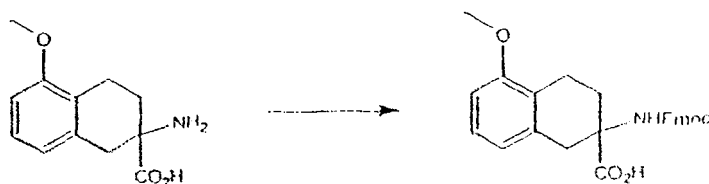
ES 2 304 128 T3

al vacío para remover la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH ~3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10%, y la emulsión blanca se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 3 → 6 → 8% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-cloro-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (540 mg, 68%), como un sólido blanco. HREM (EI): $C_{26}H_{22}ClNO_4$ (M) calc. 447,1237; observado: 447,1234.

Ejemplo 11

Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-metoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)-5-MeOAtc-OH)

Paso 1

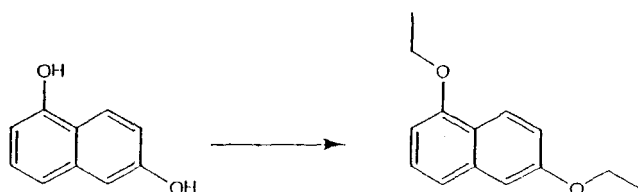


Una mezcla de ácido 5-metoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (preparado de acuerdo con Obrecht, D. y otros, *Helv. Chim. Acta.* **1992**, 75, 1666) (802 mg, 3,62 mmol), trietilamina (0,62 ml, 4,45 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 1,47 g, 4,36 mmol) en acetonitrilo (25 ml) y agua (25 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 30 horas. El análisis TLC de la reacción indicó la presencia de material inicial aminoácido. Se agregaron carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (370 mg) y trietilamina (0,6 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 24 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH ~3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10%, y la emulsión blanca se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 1 → 3 → 5 → 10% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-metoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (1,14 g, 71% rendimiento), como un sólido blanquecino. HREM (FAB): $C_{27}H_{26}NO_5$ (M+H) calc. 444,1812; observado: 444,1814.

Ejemplo 12

Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-etoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)-5-EtOAc-OH)

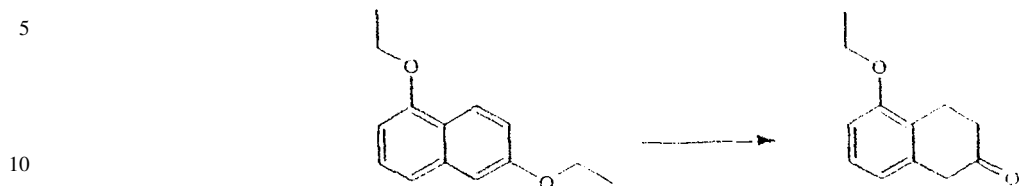
Paso 1



Una mezcla de 1,6-dihidroxi-naftaleno (5,02 g, 31,3 mmol), carbonato de potasio anhidro (52,0 g, 376 mmol), N,N-dimetilformamida (50 ml) y yodoetano (15 ml, 188 mmol) se agitó en un baño de aceite a 35°C durante 24 horas. La mezcla de reacción se filtró y el residuo sólido se enjuagó completamente con éter etílico. El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron al vacío, para separar la mayor parte de los solventes. El residuo pardo se fraccionó entre agua y éter, y las capas se separaron. La capa de éter se lavó con agua. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas de nuevo con éter. Los extractos de éter se combinaron, se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un sólido pardo crudo (6,74 g, 99% rendimiento). La recristalización del producto crudo a partir de metanol caliente proporcionó 1,6-dietoxinaftaleno (4,36 g, 64% rendimiento, primer cultivo) como un sólido pardo claro. 1H RMN ($CDCl_3$) δ 8,20 (1H, d, fenilo), 7,06-7,36 (4H, m, fenilo), 6,66 (1H, dd, fenilo), 4,10-4,23 (4H, 2 juegos de q, 2 CH_2), 1,45-1,56 (6H, 2 juegos de t, 2 CH_3).

ES 2 304 128 T3

Paso 2



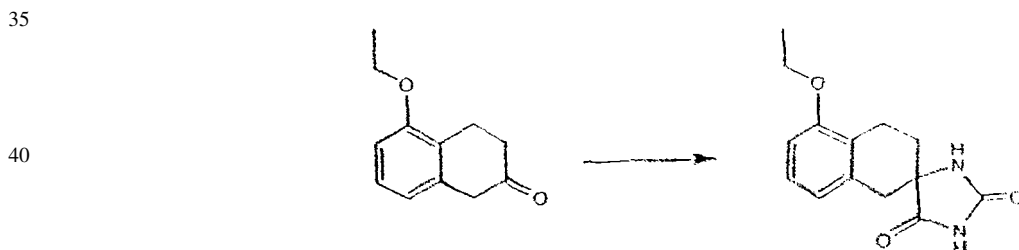
15 A una solución en reflujo de 1,6-dietoxinaftaleno (4,15 g, 19,2 mmol) en etanol absoluto (100 ml) se agregaron cuidadosamente trozos de metal sódico (6,8 g, 296 mmol) por espacio de 60 minutos. La mezcla se reflujo durante otros 90 minutos. TLC indicó la presencia de material inicial no reaccionado. Se agregó metal sódico extra (1,0 g, 43,5 mmol) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante otros 60 minutos. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se calentó con agua y se acidificó con ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se concentró al vacío para separar la mayor parte del etanol. La mezcla acuosa se extrajo tres veces con éter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un sólido pardo, el cual se disolvió en 1:1 etanol/agua (200 ml), luego se agregó ácido p-toluensulfónico (400 mg). La mezcla se sometió a reflujo durante 210 minutos. Se agregó ácido p-toluensulfónico extra (100 mg), y la mezcla se sometió a reflujo durante otros 60 minutos. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mayor parte del etanol se separó bajo presión reducida. La mezcla acuosa se extrajo tres veces con éter y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, solución de cloruro de sodio saturado y se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite pardo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (7% acetato de etilo/hexanos), para dar 5-etoxi- β -tetralona (2,43 g, 67% rendimiento) como un aceite amarillo claro. $^1\text{H RMN}$ (CDCl_3) δ 7,15 (1H, t, fenilo), 6,76 (1H, d, fenilo), 6,72 (1H, d, fenilo), 4,05 (2H, q, CH_2), 3,56 (2H, s, bencílico), 3,10 (2H, t, bencílico), 2,53 (2H, t), 1,44 (3H, t, CH_3).

20

25

30

Paso 3

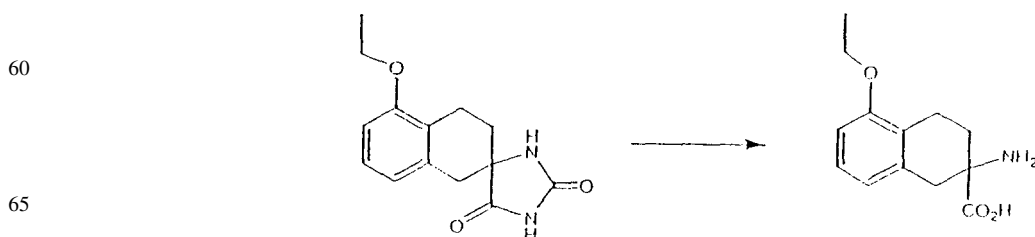


Una mezcla de 5-etoxi- β -tetralona (2,23 g, 11,7 mmol), cianuro de potasio (1,20 g, 1,84 mmol), carbonato de amonio (6,75 g, 70,2 mmol), etanol (80 ml) y agua (20 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 3 días. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó hidantoína (2,69 g, 88%) como un sólido beige. $^1\text{H RMN}$ (DMSO-d_6) δ 10,65 (1H, amplio s, NH), 8,22 (1H, amplio s, NH), 7,06 (1H, t, fenilo), 6,75 (1H, d, fenilo), 6,65 (1H, d, fenilo), 3,98 (2H, q, CH_2), 1,32 (3H, t, CH_3). LREM (Electrospray): $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$, calc. 259; observado: 258 (M-H).

50

55

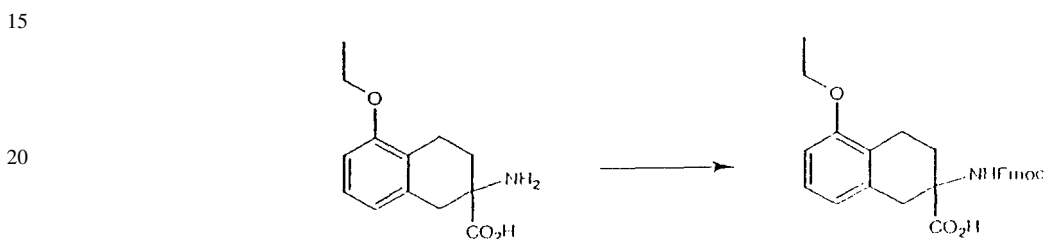
Paso 4



ES 2 304 128 T3

Una mezcla de hidantoína (2,57 g, 9,87 mmol), Ba(OH)₂ · H₂O (9,40 g, 49,6 mmol) en agua (200 ml, demasiado diluida) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 105°C durante 39 horas. Se agregó Ba(OH)₂ · H₂O extra (9,40 g, 49,6 mmol), y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 125°C durante 21 horas adicionales. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se acidificó a ~pH 3 usando ácido sulfúrico 4N, mientras que se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante una hora, y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío a ~75 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitado blanco, el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al aire, para dar ácido 5-etoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (2,34 g, rendimiento cuantitativo) como un sólido color beige claro. LREM (Electrospray): C₁₃H₁₇NO₃, calc. 235; observado: 236 (M+H), 234 (M-H).

Paso 5

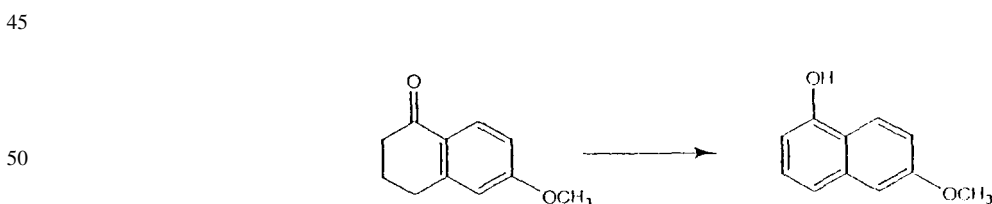


Una mezcla de ácido 5-etoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (2,22 g, 9,44 mmol), trietilamina (2,00 ml, 14,3 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 4,81 g, 14,3 mmol) en acetonitrilo (75 ml) y agua (75 ml) se agitó a temperatura ambiente durante dos días. El análisis TLC de la reacción indicó la presencia de material de partida aminoácido. Se agregaron carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (645 mg) y trietilamina (1,0 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otro día. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH ~3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10%, y la emulsión blanca se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 3 → 5 → 10% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-etoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (4,66 g. > rendimiento cuantitativo), como un sólido blanco. HREM (FAB): C₂₈H₂₈NO₅ (M+H) calc. 458,1967; observado: 458,1985.

Ejemplo 13

Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-isopropoxi-2-amino-tetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)-5-iPrOAtc-OH)

Paso 1



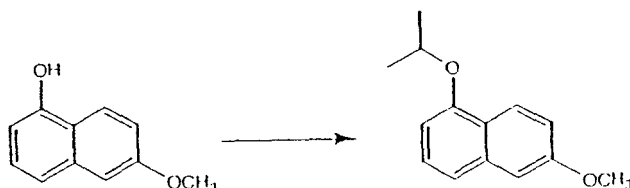
Una mezcla de 6-metoxi-1-tetralona (5,07 g, 28,8 mmol), Pd/C al 10% (3,53 g, 3,32 mmol) en p-cimeno seco (250 ml) se calentó a reflujo bajo argón durante 38 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró sobre celite y el residuo se enjuagó por completo con p-cimeno. El filtrado y los lavados fueron combinados y extraídos dos veces con solución de hidróxido de sodio 1 N (2 x 70 ml). Los extractos acuosos combinados se acidificaron con ácido clorhídrico 6N a pH ~3, y fueron extraídos tres veces con éter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro. La filtración y la concentración proporcionaron 5-hidroxi-6-metoxinaftaleno crudo (2,31 g, 46% rendimiento) como un sólido pardo claro, el cual se usó en el siguiente paso sin otra purificación. LREM (Electrospray): C₁₁H₁₀O₂, cal. 174; observado: 173 (M-H).

ES 2 304 128 T3

Paso 2

5

10



15

20

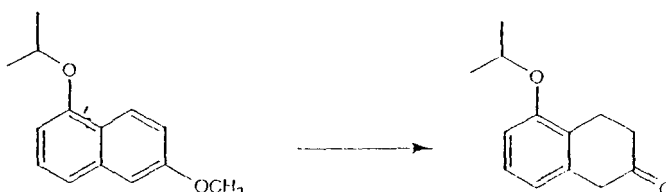
25

Una mezcla de 5-hidroxi-6-metoxinaftaleno (2,10 g, 12,1 mmol), carbonato de cesio (19,7 g, 60,5 mmol), N,N-dimetilformamida (12 ml) y 2-bromopropano (3,50 ml, 36,9 mmol) se agitó en un baño de aceite a 40°C durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y el residuo sólido se enjuagó de fondo con éter etílico. El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron al vacío, para separar la mayor parte de los solventes. El residuo pardo se fraccionó entre agua y éter, y las capas se separaron. La capa de éter se lavó con agua. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas nuevamente con éter. Los extractos de éter se combinaron, se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (2,5 → 5% acetato de etilo/ hexanos), para dar 1-isopropoxi-6-metoxinaftaleno (2,23 g, 86% rendimiento) como un aceite marrón claro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,17 (1H, d, fenilo), 7,05-7,38 (4H, m, fenilo), 6,72 (1H, dd, fenilo), 4,73 (1H, m, CH de iPr), 3,92 (3H, s, OCH₃), 1,42 (6H, d, 2 CH₃ de iPr).

Paso 3

30

35



40

45

50

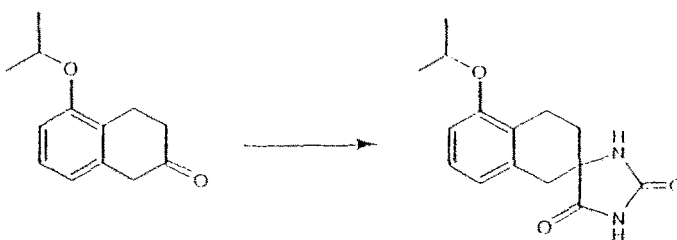
A una solución en reflujo de 1-isopropoxi-6-metoxinaftaleno (2,23 g, 10,3 mmol) en etanol absoluto (50 ml) se agregaron cuidadosamente trozos pequeños de metal sódico (3,6 g, 157 mmol) por espacio de 45 minutos. La mezcla se sometió a reflujo durante otros 120 minutos. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se templó con agua y se acidificó con ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se concentró al vacío para separar la mayor parte del etanol. La mezcla acuosa se extrajo tres veces con éter y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un sólido color rojizo, el cual se disolvió en 1:1 etanol/agua (90 ml), luego se agregó ácido p-toluensulfónico (200 mg). La mezcla se sometió a reflujo durante 60 minutos. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mayor parte del etanol se separó bajo presión reducida. La mezcla acuosa se extrajo tres veces con éter y las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, solución de cloruro de sodio saturado y se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite color rojizo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (8 → 15% acetato de etilo/hexanos), para dar 5-isopropoxi-β-tetralona (1,37 g, 65% rendimiento) como un aceite incoloro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,16 (1H, t, fenilo), 6,78 (1H, d, fenilo), 6,71 (1H, d, fenilo), 4,53 (1H, m, CH de iPr), 3,56 (2H, s, bencílico), 3,08 (2H, t, bencílico), 2,50 (2H, t), 1,37 (6H, d, 2 CH₃ de iPr).

Paso 4

55

60

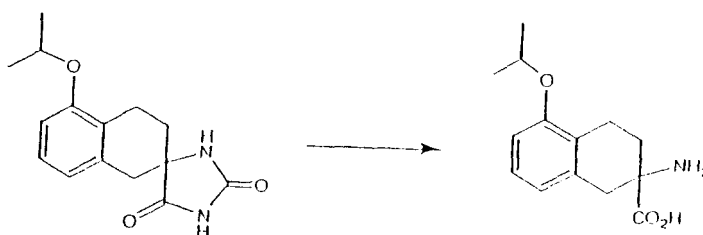
65



ES 2 304 128 T3

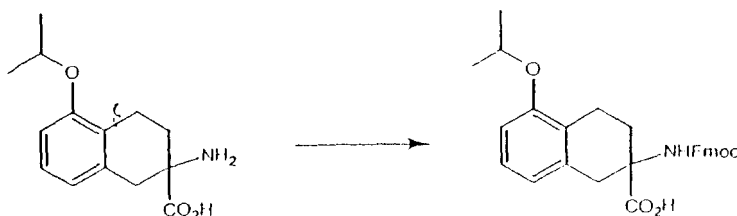
Una mezcla de 5-isopropoxi- β -tetralona (1,37 g, 6,71 mmol), cianuro de potasio (660 mg, 10,1 mmol), carbonato de amonio (3,87 g, 40,3 mmol), etanol (44 ml) y agua (9 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 42 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó hidantoína (1,64 g, 89%).

Paso 5



Una mezcla de hidantoína (1,64 g, 5,98 mmol), Ba(OH)₂ (5,66 g, 29,9 mmol) en agua (25 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 100°C durante 70 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se neutralizó a ~pH 7 usando ácido sulfúrico 4N, mientras que se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante una hora, y se enfrió hasta temperatura ambiente. Se basificó con solución de hidróxido de sodio 1N y la suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtro y los lavados combinados se concentraron al vacío a ~75 ml. La neutralización con solución de ácido clorhídrico concentrado proporcionó precipitado blanco, el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al aire, para dar ácido 5-isopropoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (3,48 g, húmedo, con contenido de sal inorgánica, > rendimiento cuantitativo). LREM (Electrospray): C₁₄H₁₉NO₃, cal. 249; observado: 248 (M-H).

Paso 6



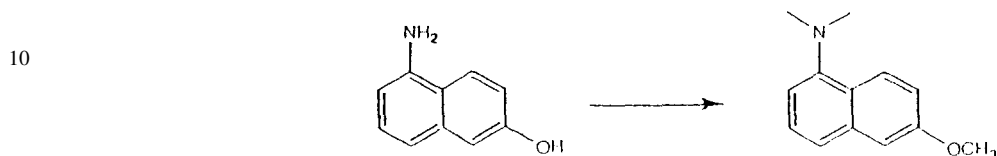
Una mezcla de ácido 5-isopropoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (3,48 g, 5,98 mmol teórico), trietilamina (1,10 ml, 7,89 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 2,62 g, 7,77 mmol) en acetonitrilo (30 ml) y agua (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante un día. El análisis TLC de la reacción indicó la presencia de material inicial aminoácido. Se agregó carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (500 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otro día. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH ~3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10% y la emulsión blanca se extrajo tres veces con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 1 → 2 → 5 → 8% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-isopropoxi-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (0,50 g, 18% rendimiento en 2 pasos), como un sólido blanco. HREM (FAB): C₂₉H₃₀NO₅ (M+H) calc. 472,2124; observado: 472,2117.

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 14

Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-dimetilamino-2-amino-tetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)-5-DmaAtc-OH)

5 Paso 1

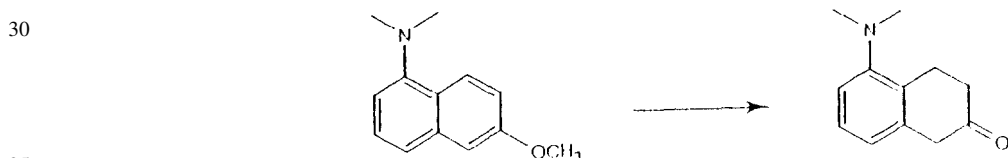


15

Una mezcla de 5-amino-2-naftol (2,97 g, 18,6 mmol), carbonato de potasio (37,0 g, 368 mmol), acetona (100 ml) y yodometano (10,0 ml, 161 mmol) se sometió a reflujo durante 2 días. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se filtró, y el residuo sólido se enjuagó completamente con éter etílico y acetona. El filtrado y los lavados se combinaron y se concentraron al vacío, para separar la mayor parte de los solventes. El residuo pardo se fraccionó entre agua y éter, y las capas se separaron. La capa de éter se lavó con agua. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas inversamente con éter, Los extractos de éter se combinaron, se lavaron con salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron 1-dimetilamino-6-metoxinaftaleno crudo (3,54 g, 94% rendimiento) como un aceite pardo oscuro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 8,16 (1H, t, fenilo), 7,30-7,50 (2H, m, aromático), 7,10-7,20 (2H, m, aromático), 6,96 (1H, d, aromático), 3,93 (3H, s, OCH₃), 2,89 (6H, s, N(CH₃)₂).

25

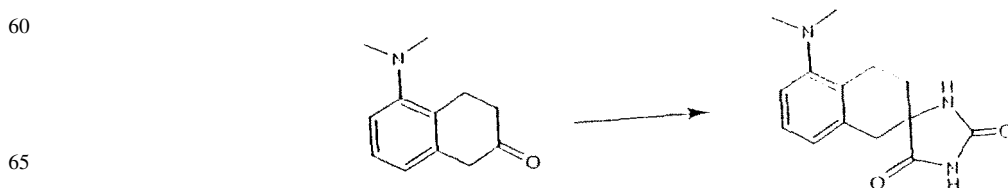
Paso 2



A una solución en reflujo de 1-dimetilamino-6-metoxinaftaleno (2,99 g, 14,9 mmol) en etanol absoluto (100 ml) se agregaron cuidadosamente trozos pequeños de metal sódico (5,76 g, 251 mmol) por espacio de 45 minutos. La mezcla se sometió a reflujo durante otros 45 minutos. TLC indicó la presencia de material de partida no reaccionado. Se agregó metal sódico extra (7,09 g, 308 mmol) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo hasta que TLC indicara la completa consumición de todo el material de partida. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se ajustó el pH a ~9-10 con ácido clorhídrico concentrado. La mezcla se concentró al vacío para separar la mayor parte del etanol. La mezcla acuosa se extrajo cuatro veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con bicarbonato de sodio saturado y se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite pardo oscuro, el cual se disolvió en 1:1 etanol/agua (150 ml), luego se agregó ácido p-toluensulfónico (3,05 g), para llevar el pH a ~2-3. La mezcla se sometió a reflujo durante 3 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mayor parte del etanol se separó bajo presión reducida. El pH de la mezcla se ajustó a ~9-10 con solución de hidróxido de sodio 2N, y la mezcla acuosa se extrajo cuatro veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución de bicarbonato de sodio saturado y se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite pardo oscuro, el cual fue purificado por cromatografía de columna (15% acetato de etilo/hexanos), para dar 5-dimetilamino-β-tetralona (834 mg, 30% rendimiento) como un aceite pardo. ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,18 (1H, t, fenilo), 6,96 (1H, d, fenilo), 6,96 (1H, d, fenilo), 6,82 (1H, d, fenilo), 3,57 (2H, s, benílico), 3,10 (2H, t, benílico), 2,70 (6H, s, N(CH₃)₂), 2,48 (2H, t). LREM (Electrospray): C₁₂H₁₅NO, calc. 189; observado: 190 (M+H).

55

Paso 3



ES 2 304 128 T3

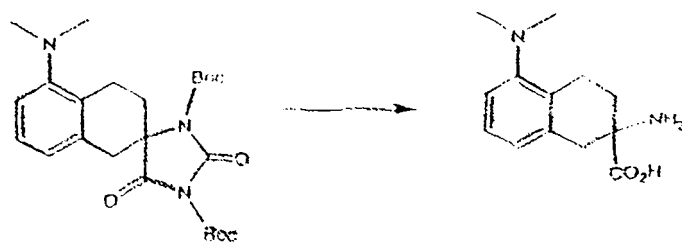
Una mezcla de 5-dimetilamino- β -tetralona (0,97 g, 5,13 mmol), cianuro de potasio (510 mg, 7,82 mmol), carbonato de amonio (2,98 g, 31,0 mmol), etanol (40 ml) y agua (10 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 29 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión de color pardo oscuro se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó hidantoína (885 mg, 67%) como un sólido pardo oscuro. LREM (Electrospray): $C_{14}H_{17}N_3O_2$, cal. 259; observado: 260 (M+H), 258 (M-H).

Paso 4



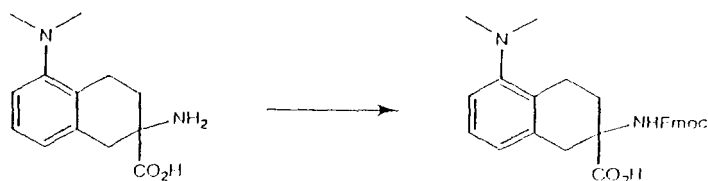
A una solución de hidantoína (832 mg, 3,21 mmol) en THF (25 ml) se agregó di-*t*-butil-dicarbonato (2,51 g, 11,5 mmol), trietilamina (0,50 ml, 3,59 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (17 mg, 0,14 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Los solventes se separaron al vacío y el crudo se purificó usando cromatografía de columna (15% acetato de etilo/hexanos), para dar bis-Boc hidantoína (1,02 g, 69% rendimiento) como una espuma amarilla. LREM (Electrospray): $C_{24}H_{33}N_3O_6$, calc. 459; observado: 919 (2M+H).

Paso 5



A una solución de bis-Boc hidantoína (988 mg, 2,15 mmol) en dimetoxietano (15 ml) se agregó solución de hidróxido de sodio 1 N (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayor parte de los solventes, y se agregó agua a la mezcla de color pardo claro resultante. La mezcla acuosa se extrajo dos veces con cloruro de metileno y dos veces con acetato de etilo. La capa acuosa se concentró a ~20 ml, se neutralizó a pH ~7 con ácido clorhídrico 1 N, para dar una suspensión. La suspensión se filtró, para dar ácido 5-dimetilamino-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (1,33 g, aún húmedo, > rendimiento cuantitativo), como un sólido blanquecino: LREM (Electrospray): $C_{13}H_{18}N_2O_2$, calc. 234; observado: 235 (M+H).

Paso 6



Una mezcla de ácido 5-dimetilamino-2-aminotetralina-2-carboxílico (1,33 g, 2,15 mmol teórico), trietilamina (0,40 ml, 2,87 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 0,92 g, 2,73 mmol) en acetonitrilo (10 ml) y agua (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante un día. El análisis TLC de la reacción indicó la presencia de material de partida aminoácido. Se agregaron carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (400 mg) y trietilamina (0,2

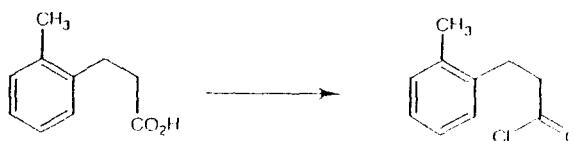
ES 2 304 128 T3

ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otro día. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayor parte del acetonitrilo, y la mezcla casi neutra se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 2,5 → 6 → 10 → 15 → 20% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-dimetilamino-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (602 mg, 61% rendimiento en 2 pasos), como un sólido blanquecino. HREM (FAB): C₂₈H₂₈N₂O₄(M) calc. 456,2049; observado: 456,2056.

Ejemplo 15

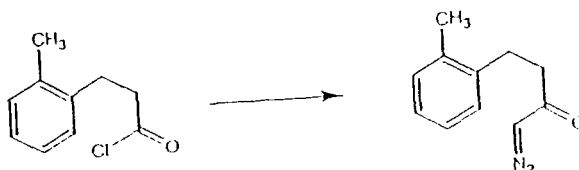
Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-metil-2-aminotetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)-5-MeAtc-OH)

Paso 1



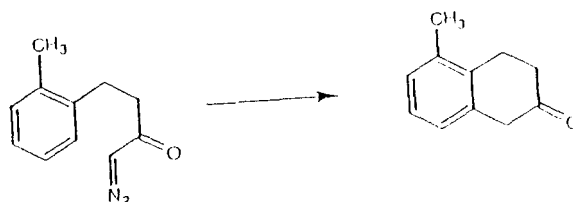
Una mezcla de ácido 2-metilhidrocínámico (3,0 g, 18,3 mmol), cloruro de oxalilo (3,19 ml, 36,6 mmol) y cloruro de metileno (30 ml) se enfrió en un baño de hielo, y se agregó N,N-dimetilformamida (0,14 ml, 1,81 mmol) por goteo. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La concentración al vacío proporcionó cloruro de 3-(2-metilfenil)-propanoilo, el cual se tomó en cloruro de metileno y se usó en el próximo paso como un crudo.

Paso 2



Una solución del cloruro ácido anterior (crudo, 18,3 mmol) en cloruro de metileno se agregó lentamente a una solución de diazometano (generado a partir de 11,9 g de 1-metil-3-nitro-1-nitrosoguanidina) en éter (80 ml) enfriado en un baño de hielo. La mezcla luego se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de columna (10 → 20% acetato de etilo/hexanos), para dar 1-diazo-4-(2-metilfenil)butan-2-ona (2,08 g, 60% en 2 pasos) como un aceite amarillo brillante.

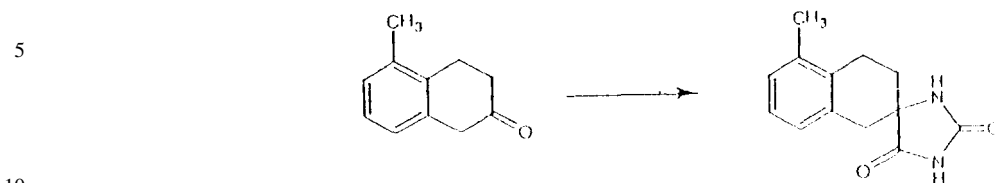
Paso 3



A una mezcla de acetato de rodio (II) dimero (24 mg, 0,109 mmol) en cloruro de metileno (200 ml) bajo reflujo se agregó lentamente una solución de 1-diazo-4-(2-metil-fenil)butan-2-ona (2,08 g, 11,1 mmol) en cloruro de metileno (50 ml) durante 180 minutos. Después de que se completó la adición, la mezcla se reflujo durante veinte minutos más. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó ácido trifluoroacético (2,40 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La reacción se templó con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas se separaron y la capa cloruro de metileno se lavó una vez más solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas de nuevo con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío, para dar un aceite pardo crudo. La purificación por cromatografía de columna (15% acetato de etilo/hexanos) proporcionó 5-metil-β-tetralona (1,48 g, 84% rendimiento) como un aceite de color marrón claro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 6,90-7,20 (3H, m, fenilo), 3,58 (2H, s, bencílico), 3,03 (2H, t, bencílico), 2,55 (2H, t), 2,34 (3H, s, CH₃).

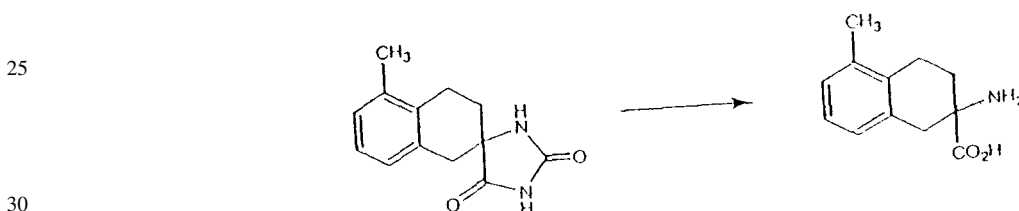
ES 2 304 128 T3

Paso 4



15 Una mezcla de 5-metil- β -tetralona (1,48 g, 9,24 mmol), cianuro de potasio (902 mg, 13,9 mmol), carbonato de amonio (5,33 g, 55,5 mmol), etanol (45 ml) y agua (9 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 3 días. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó hidantoína cruda (1,81 g, 85% rendimiento) como un sólido beige. ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 10,66 (1H, amplio s, NH), 8,22 (1H, amplio s, NH), 6,85-7,05 (3H, m, fenilo), 2,17 (3H, s, CH $_3$).

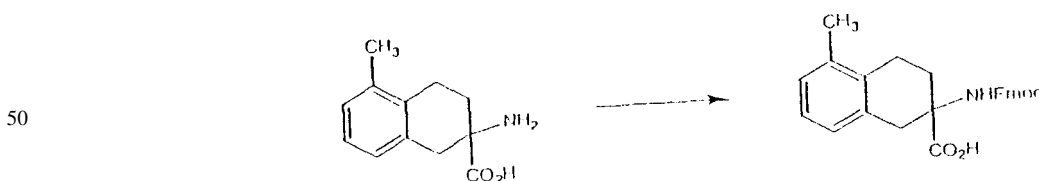
20 Paso 5



35 Una mezcla de hidantoína (1,80 g, 7,82 mmol), Ba(OH) $_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (7,40 g, 39,1 mmol) en agua (28 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 125°C durante 88 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se acidificó a ~ 3 usando ácido sulfúrico 4N, mientras que se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante una hora, y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío a ~ 50 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitado blanco, el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al aire, para dar ácido 5-metil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (1,05 g, 65% rendimiento) como un sólido color beige. LREM (Electrospray): C $_{12}$ H $_{15}$ NO $_2$, calc. 205; observado: 206 (M+H).

40

45 Paso 6



Una mezcla de ácido 5-metil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (1,05 g, 5,12 mmol), trietilamina (0,93 ml, 6,67 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 2,24 g, 6,64 mmol) en acetonitrilo (30 ml) y agua (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. El análisis TLC de la reacción indicó la presencia de material inicial aminoácido. Se agregó carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (520 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 24 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío para remover la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH ~ 3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10%, y la emulsión blanca se extrajo dos veces con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 2 \rightarrow 5 \rightarrow 8% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-metil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (1,62 g, 74% rendimiento), como un sólido de color pardo claro. HREM (FAB): C $_{27}$ H $_{26}$ NO $_4$ (M+H) calc. 428,1862; observado: 428,1844.

60

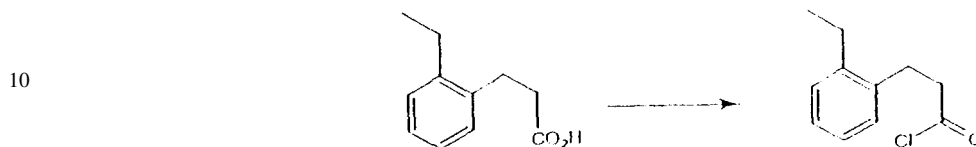
65

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 16

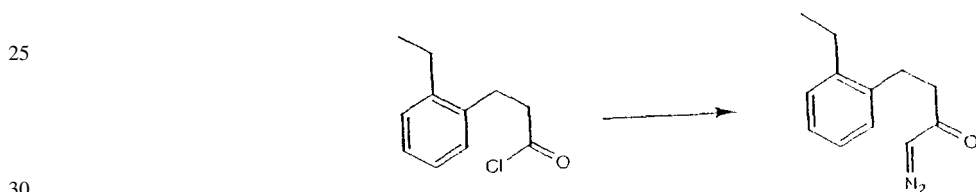
Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-etil-2-aminotetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)-5-EtAtc-OH)

5 Paso 1



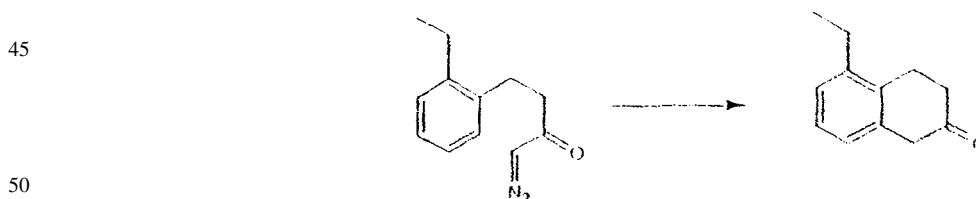
15 Una mezcla de ácido 3-(2-etilfenil)propanoico (preparado en 3 pasos a partir de 1-etil-2-yodobenceno, 4,24 g, 23,8 mmol), cloruro de tionilo (9,50 ml, 130 mmol) y tolueno (100 ml) se refluxó durante 2 horas. La concentración al vacío proporcionó cloruro de 3-(2-etilfenil)propanoilo, el cual se tomó en cloruro de metileno y se usó en el próximo paso como un crudo.

20 Paso 2



35 Una solución del cloruro ácido anterior (crudo, 23,8 mmol) en cloruro de metileno se agregó lentamente a una solución de diazometano (generado a partir de 15,6 g de 1-metil-3-nitro-1-nitrosoguanidina) en éter (100 ml) enfriado en un baño de hielo. La mezcla se calentó luego hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de columna (10 → 20% acetato de etilo/hexanos), para dar 1-diazo-4-(2-etilfenil)butan-2-ona (3,47 g, 72% en dos pasos). ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,1-7,25 (4H, m, fenilo), 5,21 (1H, amplio s, diazol), 2,97 (2H, m, CH₂ de etilo), 1,20 (3H, t, CH₃).

40 Paso 3



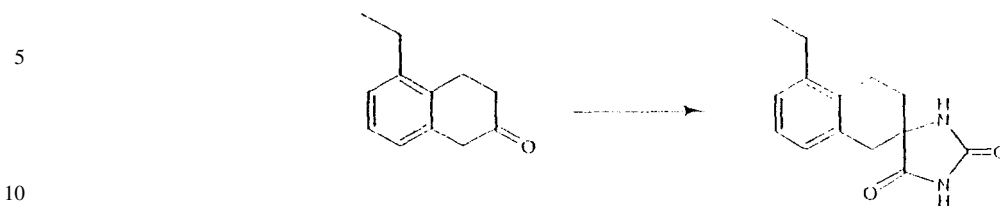
55 A una mezcla de acetato de rodio (II) dímero (38 mg, 0,172 mmol) en cloruro de metileno (300 ml) bajo reflujo se agregó lentamente una solución de 1-diazo-4-(2-etil-fenil)butan-2-ona (3,47, 17,2 mmol) en cloruro de metileno (50 ml) durante 90 minutos. Después de que se completó la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante veinte minutos extra. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó ácido trifluoroacético (3,75 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. La reacción se templó con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas se separaron y la capa de cloruro de metileno se lavó una vez más con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas inversamente con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío, para dar 5-etil-β-tetralona cruda (3,09 g, > rendimiento cuantitativo) como un aceite pardo rojizo. El compuesto se usó en el siguiente paso sin otra purificación. ¹H RMN (CDCl₃) δ 6,9-7,2 (3H, m, fenilo), 3,58 (2H, s, bencílico), 3,08 (2H, s, bencílico), 2,70 (2H, q, CH₂ de etilo), 2,52 (2H, t, bencílico), 1,20 (3H, t, CH₃ de etilo).

60

65

ES 2 304 128 T3

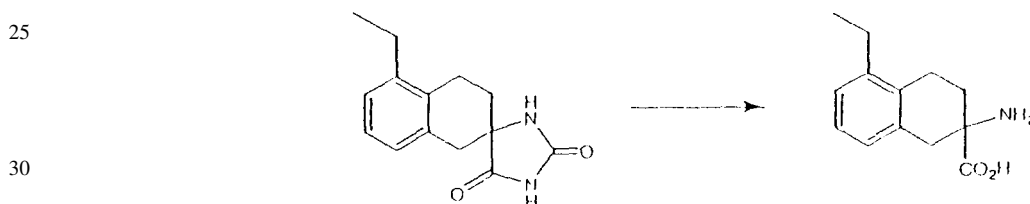
Paso 4



15 Una mezcla de 5-etil- β -tetralona (3,09 g, 117,7 mmol), cianuro de potasio (1,73 g, 26,6 mmol), carbonato de amonio (10,2 g, 106 mmol), etanol (80 ml) y agua (16 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 48 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión blanca se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó la hidantonía (3,85 g, 92% rendimiento en 2 pasos) como un sólido de color beige claro. ^1H RMN (CMSO- d_6) δ 10,67 (1H, amplio s, NH), 8,26 (1H, amplio s, NH), 6,8-7,1 (3H, m, fenilo), 1,13 (3H, t, CH_3). LREM (Electrospray): $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$, calc. 244; observado: 243 (M-H).

20

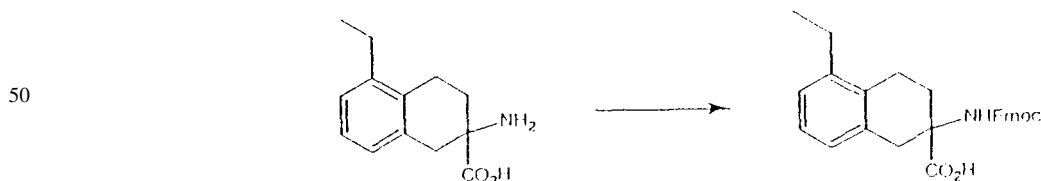
Paso 5



35 Una mezcla de hidantonía (1,00 g, 4,09 mmol), $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (4,00 g, 21,1 mmol) en agua (20 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 125°C durante 48 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se acidificó a \sim pH 3 usando ácido sulfúrico 4N, mientras que se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante dos horas y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío a \sim 50 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitado blanco, el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al vacío durante la noche, para dar ácido 5-etil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (796 mg, 89% rendimiento). LREM (Electrospray): $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{NO}_2$, calc. 219; observado: 220 (M+H).

40

Paso 6



55 Una mezcla de ácido 5-etil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (765 mg, 3,49 mmol), trietilamina (1,0 ml, 7,17 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 1,79 g, 5,31 mmol) en acetonitrilo (40 ml) y agua (40 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH \sim 3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10%, y la emulsión blanca se extrajo dos veces con cloruro de metileno, dos veces con acetato de etilo. Los extractos de cloruro de metileno se lavaron con agua, salmuera, y se secaron sobre sulfato de magnesio. Los extractos de acetato de etilo se lavaron con agua, salmuera y se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 2 \rightarrow 5 \rightarrow 8% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-etil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (330 mg, 21% rendimiento), como un sólido blanco. HREM (FAB): $\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{NO}_4$ (M+H) calc. 442,2018; observado: 443,2010.

60

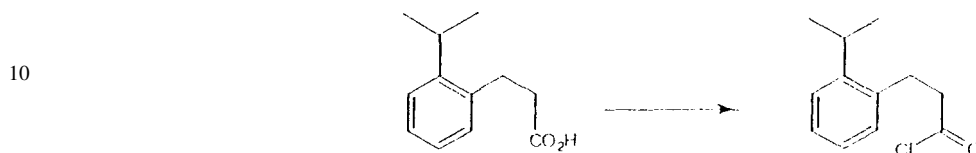
65

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 17

Preparación de ácido Fmoc-(D,L)-5-isopropil-2-amino-tetralina-2-carboxílico (Fmoc-(D,L)-5-iPrAtc-OH)

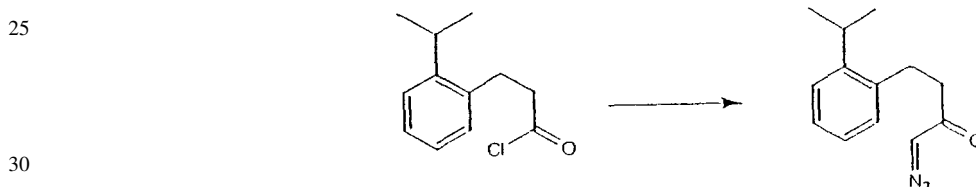
5 Paso 1



15 Una mezcla de ácido 3-(2-isopropilfenil)propanoico (preparado en 3 pasos a partir de 1-isopropil-2-yodobenceno, 2,01 g, 10,5 mmol), cloruro de tionilo (4,30 ml, 59,0 mmol) y tolueno (40 ml) se sometió a reflujo durante 2 horas. La concentración al vacío proporcionó cloruro de 3-(2-isopropilfenil)propanoilo, el cual se tomó en cloruro de metileno y se usó en el próximo paso como un crudo.

20

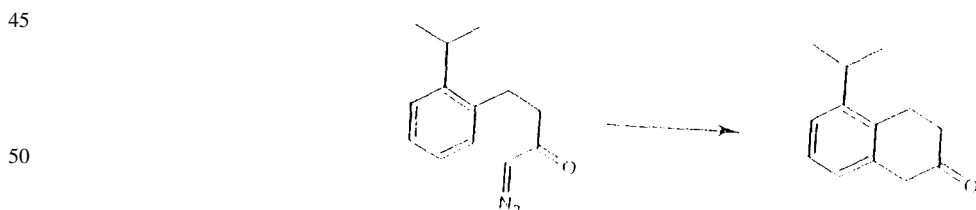
Paso 2



35 Una solución de cloruro ácido anterior (crudo, 10,5 mmol) en cloruro de metileno se agregó lentamente a una solución de diazometano (generado a partir de 6,95 g de 1-metil-3-nitro-1-nitrosoguanidina) en éter (50 ml) enfriado en un baño de hielo. La mezcla luego se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía de columna (20% acetato de etilo/hexanos), para dar 1-diazo-4-(2-isopropilfenil)butan-2-ona (1,87 g, 82% en dos pasos) como un aceite amarillo brillante. ¹H RMN (CDCl₃) δ 7,10-7,30 (4H, m, fenilo), 5,21 (1H, amplio s, diazo), 3,15 (1H, m, CH de iPr), 3,00 (2H, t, bencílico), 2,57 (2H, m), 1,24 (6H, d, 2 CH₃ de iPr).

40

Paso 3



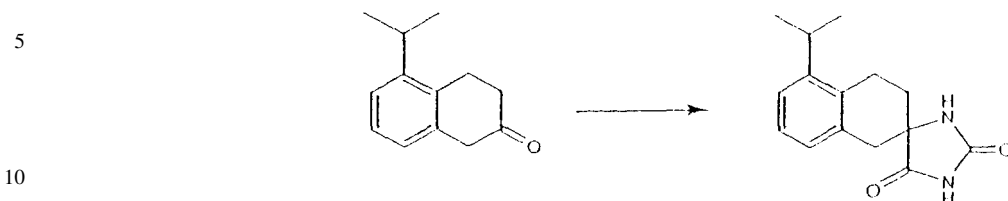
55 A una mezcla de acetato de rodio (II) dimero (20 mg, 0,091 mmol) en cloruro de metileno (160 ml) bajo reflujo se agregó lentamente una solución de 1-diazo-4-(2-bromofenil)-butan-2-ona (1,87 g, 8,65 mmol) en cloruro de metileno (25 ml) durante 60 minutos. Después de que se completó la adición, la mezcla se sometió a reflujo durante quince minutos extra. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se agregó ácido trifluoroacético (1,90 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. La reacción se enfrió con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas se separaron y la capa de cloruro de metileno se lavó una vez más con solución de bicarbonato de sodio saturado. Las capas acuosas combinadas fueron extraídas de nuevo con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío, para dar un aceite pardo crudo. La purificación por cromatografía de columna (5% acetato de etilo/hexanos) proporcionó 5-isopropil-β-tetralona (1,57 g, 96% rendimiento) como un aceite amarillo claro. ¹H RMN (CDCl₃) δ 6,93-7,22 (3H, m, fenilo), 3,59 (2H, s, bencílico), 3,24 (1H, m, CH de iPr), 3,12 (2H, t, bencílico), 2,52 (2H, t), 1,27 (6H, d, 2 CH₃ de iPr).

60

65

ES 2 304 128 T3

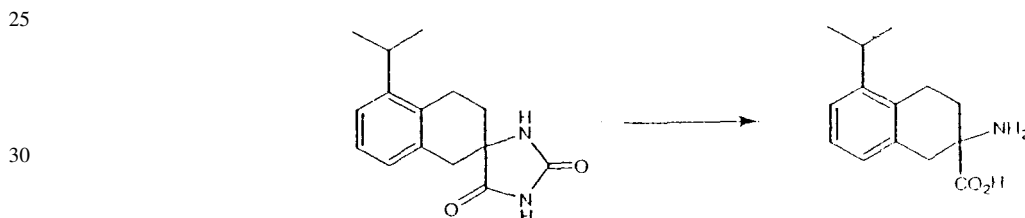
Paso 4



15 Una mezcla de 5-isopropil- β -tetralona (1,57 g, 8,34 mmol), cianuro de potasio (0,82 g, 12,6 mmol), carbonato de amonio (4,81 g, 50,1 mmol), etanol (40 ml) y agua (10 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 48 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión parda se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó hidantoína cruda como un sólido de color beige. ^1H RMN (DMSO- d_6) δ 10,69 (1H, amplio s, NH), 8,30 (1H, amplio s, NH), 6,85-7,32 (3H, m, fenilo), 1,15 (6H, t, CH_3). LREM (Electrospray): $\text{C}_{15}\text{N}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ calc. 258; observado: 539 (2M+Na).

20

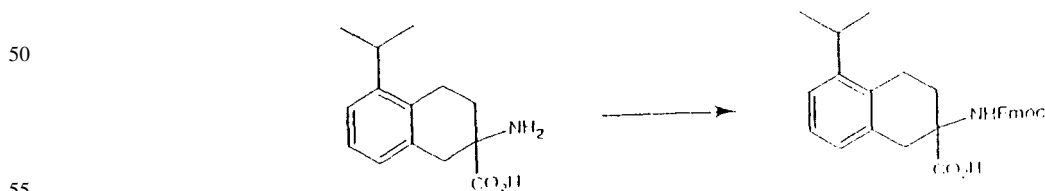
Paso 5



35 Una mezcla de hidantonía (cruda, 8,34 mmol teórico), $\text{Ba}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (7,90 g, 41,7 mmol) en agua (40 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 125°C durante 38 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se acidificó a $\sim\text{pH}$ 3 usando ácido sulfúrico 4N, mientras que se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante dos horas, y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío a ~ 50 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitado blanco, el cual se filtró, se lavó con agua y se secó al vacío durante la noche, para dar ácido 5-isopropil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (1,23 g, 63% rendimiento en 2 pasos) como un sólido color beige. LREM (Electrospray): $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{NO}_2$, calc. 233; observado: 232 (M-H).

40

Paso 6



60 Una mezcla de ácido 5-isopropil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (250 mg, 1,07 mmol), trietilamina (1,2 ml, 8,61 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimido (Fmoc-OSu, 2,70 g, 8,00 mmol) en acetonitrilo (30 ml) y agua (30 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla de reacción se concentró al vacío para remover la mayor parte del acetonitrilo, se acidificó a pH ~ 3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10% y la emulsión blanca se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua, salmuera, y se secó sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 2 \rightarrow 5 \rightarrow 8% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-5-isopropil-2-aminotetralina-2-carboxílico racémico (208 mg, 43% rendimiento), como una espuma blanquecina. HREM (FAB): $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{NO}_4$ (M+H) calc. 456,2175; observado: 456,2184.

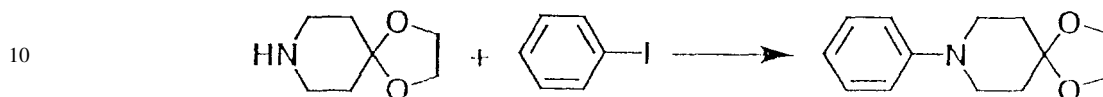
65

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 18

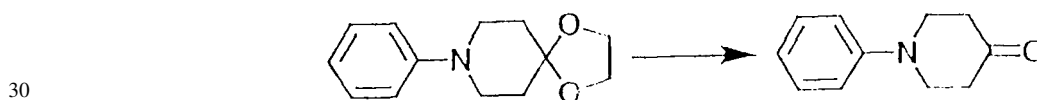
Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-fenilpiperidina-4-carboxílico (Fmoc-Appc-OH)

5 Paso 1



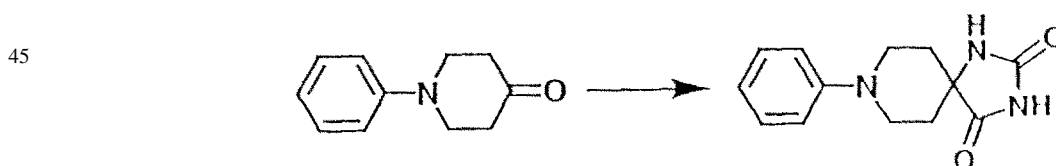
15 A una solución de yodobenceno (6,37 g, 3,5 ml, 3,12 mmol), 1,4-dioxa-8-azaspiro [4,5] decano (10,32 g, 9,3 ml, 72,2 mmol, 2,3 equiv.) y ter-butóxido de sodio (8,0 g, 83,3 mmol, 2,7 equiv.) en dioxano seco (120 ml) se agregaron tris(dibencildenoacetona)dipaladio(0) (91 mg, 0,1 mmol) y tri-*o*-tolilfosfina (180 mg, 0,591 mmol). La reacción se calentó a 90°C durante 26 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, para dar un aceite pardo. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 a 75/25), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (6,08 g, 89%). ¹H RMN (CDCl₃), 7,25 (ddt, 2H), 6,95 (dd, 2H), 6,84 (t, 1H), 4,00 (s, 4H), 3,32 (t, 4H) y 1,84 (t, 4H); EM (Electrospray) m/e 220 (M+H). calc. Para C₁₃H₁₇NO₂, 219.

25 Paso 2



35 Una solución del cetal (3,22 g, 15,16 mmol) en acetona (100 ml) se agregó ácido clorhídrico 6N (50 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se tomó en EtOAc y se neutralizó con solución de NaOH 6N acuosa. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El producto crudo se purificó en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 80/20 → 60/40), para dar el producto con un aceite amarillo (2,58 g, 97%). EM (Electrospray) m/e 176 (M+H), calc. para C₁₁H₁₃NO, 175.

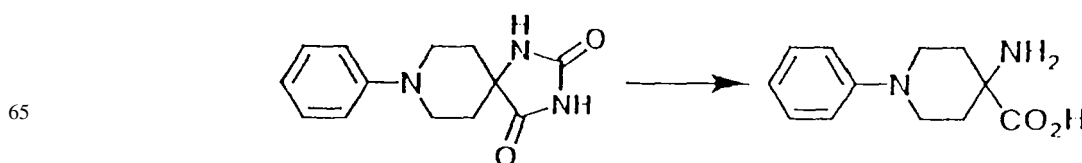
40 Paso 3



50

55 A una solución de la cetona (2,53 g, 14,46 mmol) en etanol (75 ml) y agua (25 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (12,9 g, 134,3 mmol, 9 equiv.) y cianuro de potasio (2,11 g, 32,5 mmol, 2 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción enfriada se concentró al vacío y el residuo se trató con agua, se extrajo con EtOAc (4x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron, para dar la hidantoina espectroscópicamente pura como un sólido blanco (3,36 g, 95% rendimiento). EM (Electrospray) m/e 246 (M+H), calc. para C₁₃H₁₅N₃O₂, 245.

60 Paso 4



ES 2 304 128 T3

La hidantonía (3,36 g) se suspendió en NaOH acuoso (100 ml, 6 N) y se calentó a 130°C durante 2-3 días. Al completarse la hidrólisis (por HPLC), la mezcla de reacción se neutralizó con HCl conc. a levemente ácido (pH ~6). La suspensión resultante se filtró, se lavó con agua y se secó, para dar ácido 4-amino-1-fenilpiperidina-4-carboxílico (APPC) como un sólido blanco (5,26 g, > 100% rendimiento, húmedo y contaminado con sal inorgánica), el cual
 5 mostró un único pico en HPLC, y se usó directamente para el siguiente paso. EM (Electrospray) m/e 221 (M+H), calc. para C₁₂H₁₆N₂O₂, 220.

Paso 5

10



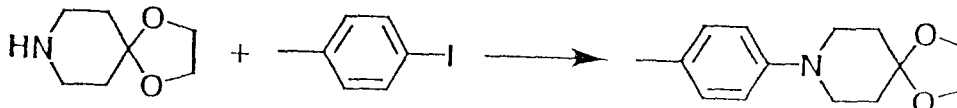
El amino ácido APPC crudo del último paso se suspendió en dioxano (80 ml) y Na₂CO₃ al 10% acuoso (40 ml), se trató con Fmoc-Cl (5,3 g, 20,57 mmol, 1,5 equiv.) y se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción luego se concentró para separar dioxano, se neutralizó con HCl 6N a levemente ácido (pH 6) y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. La separación del solvente proporcionó el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía instantánea (hexano/EtOAc a CH₂Cl₂/MeOH), para dar APPC puro (4,91 g, 81% rendimiento total para dos pasos). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,88 (d, 2H), 7,74 (d, 2H), 7,19-7,42 (m, 8H), 4,20-4,31 (m, 3H); HREM m/z 465,1788, calc. para C₂₇H₂₆N₂O₄Na, 465, 1791.
 20
 25

Ejemplo 19

30 *Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-(4-metilfenil)-piperidina-4-carboxílico (Fmoc-4-MeAppc-OH)*

Paso 1

35



A una solución de 4-yodotolueno (2,12 g, 9,7 mmol), 1,4-dioxa-8-azaspiro [4,5] decano (2,8 ml, 3,12 g, 21,82 mmol, 2,2 equiv.) y ter-butoxido de sodio (2,6 g, 27,08 mmol, 2,8 equiv.) en dioxano seco (40 ml) se agregaron tris (dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (44,4 mg, 0,0485 mmol) y tri-o-tolilfosfina (59,0 mg, 0,194 mmol). La reacción se calentó a 90°C durante 26 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para remover solvente. El residuo se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, para dar un aceite marrón. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 a 75/25), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (1,937 g, 85%). ¹H RMN (CDCl₃), 7,06 (d, 2H), 6,87 (d, 2H), 3,99 (s, 4H), 3,26 (t, 4H), 2,26 (s, 3H) y 1,85 (t, 4H).
 45
 50

Paso 2

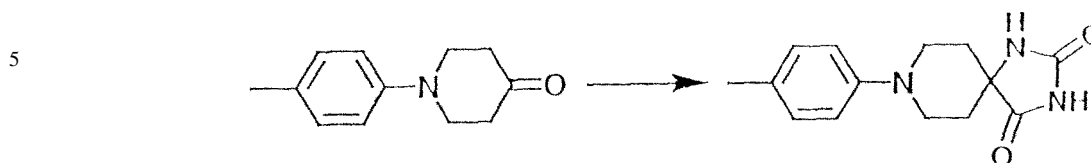
55



A una solución del cetal (1,58 g, 6,79 mmol) en acetona (50 ml) se agregó ácido clorhídrico 6N (25 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción resultante se concentró para remover solvente. El residuo se tomó en EtOAc y se neutralizó con solución de NaOH 6N acuosa. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El producto crudo se purificó en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 70/30), para dar el producto como un aceite amarillo (1,27 g, 98%). EM (Electrospray) m/e 190 (M+H), calc. para C₁₂H₁₅NO, 189.
 65

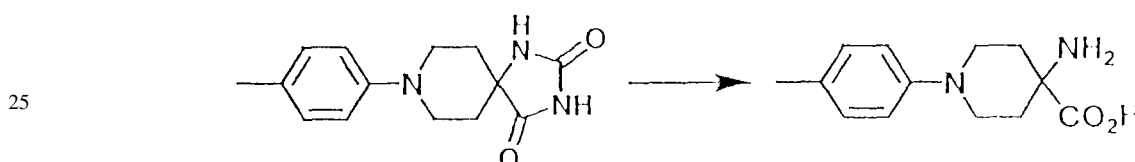
ES 2 304 128 T3

Paso 3



15 A una solución de la cetona (1,17 g, 6,18 mmol) en etanol (60 ml) y agua (20 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (4,74 g, 49,44 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (1,01 g, 15,54 mmol, 2,5 equiv.). La mezcla se calentó a 90°C durante 22 horas. La mezcla de reacción enfriada se concentró al vacío y el residuo se trató con agua, se extrajo con EtOAc (4x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron, para dar la hidantonía espectroscópicamente pura como un sólido blanco (1,554 g, 97% rendimiento). EM (Electrospray) m/e 260 (M+H), calc. para C₁₄H₁₇N₃O₂, 259.

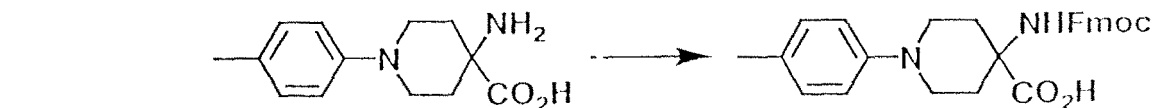
Paso 4



30 La hidantonía (1,502 g) se suspendió en NaOH acuoso (40 ml, 6N) y se calentó a 130°C durante 4 días. Al completarse la hidrólisis (por HPLC), la mezcla de reacción se neutralizó con HCl conc. a levemente ácido (pH ~6). La suspensión resultante se filtró, se lavó con agua y se secó, para dar ácido 4-amino-1-(4-metilfenil)piperidina-4-carboxílico (4-MeAPPC) como un sólido blanco (2,10 g, > 100% rendimiento, húmedo y contaminado con sal inorgánica), el cual mostró un único pico en HPLC, y se usó directamente en el siguiente paso. EM (Electrospray) m/e 235 (M+H), calc. para C₁₃H₁₈N₂O₂, 234.

35

Paso 5



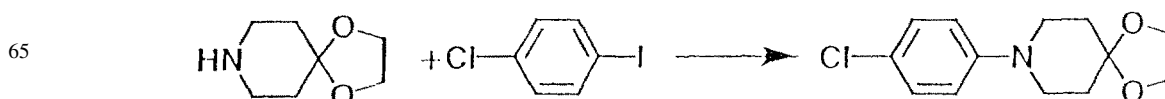
50 El amino ácido 4-MeAPPC crudo del último paso se suspendió en dioxano (80 ml) y Na₂CO₃ al 10% acuoso (40 ml), se trató con Fmoc-Cl (2,2 g, 8,59 mmol, 1,5 equiv.) y se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción luego se concentró para separar dioxano, se neutralizó con HCl 6N a levemente ácido (pH 6) y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. La separación del solvente proporcionó el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía instantánea (hexano/EtOAc a CH₂Cl₂/MeOH), para dar Fmoc-4-MeAPPC puro (2,16 g, 82% rendimiento total para dos pasos). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,88 (d, 2H), 7,72 (d, 2H), 7,39 (t, 2H), 7,30 (td, 2H), 6,99 (d, 2H), 6,82 (d, 2H), 2,18 (s, 3H); EM (Electrospray) m/e 457 (M+H), calc para C₂₈H₂₈N₂O₄, 456.

55

Ejemplo 20

Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-(4-clorofenil)-piperidina-4-carboxílico (Fmoc-4-ClAppc-OH)

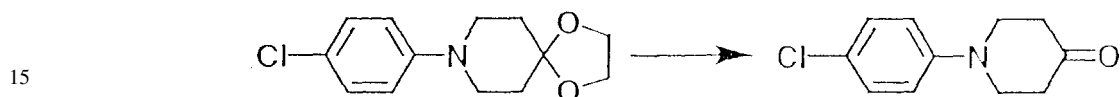
Paso 1



ES 2 304 128 T3

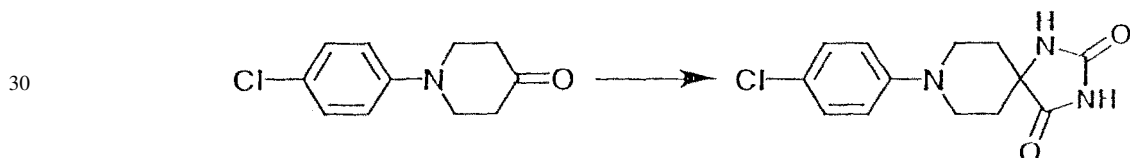
5 A una solución de 1-cloro-4-yodobenceno (2,38 g, 10,0 mmol), 1,4-dioxa-8-azaspiro [4,5] decano (3,1 ml, 344, g, 24,0 mmol, 2,4 equiv.) y ter-butoxido de sodio (2,68 g, 28,0 mmol, 2,8 equiv.) en dioxano seco (40 ml) se agregaron tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (45,5 mg, 0,0497 mmol) y tri-*o*-tolil-fosfina (61 mg, 0,20 mmol). La reacción se calentó a 90°C durante 9 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, para dar un aceite pardo. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 a 75/25), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (2,17 g, 86%). ¹H RMN (CDCl₃), 7,18 (dt, 2H), 6,85 (dt, 2H), 3,98 (s, 4H), 3,28 (t, 4H) y 1,82 (t, 4H).

10 Paso 2



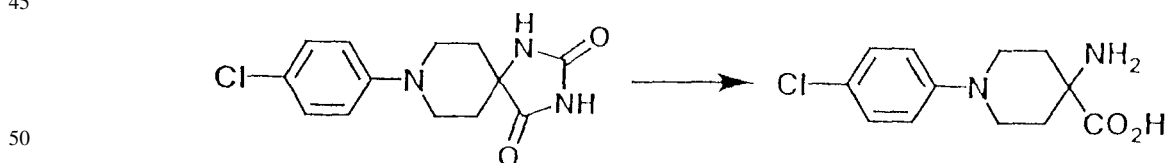
20 A una solución del cetal (2,123 g, 8,39 mmol) en acetona (75 ml) se agregó ácido clorhídrico 6N (30 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se tomó en EtOAc y se neutralizó con solución de NaOH 6N acuosa. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El producto crudo se purificó en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 → 70/30), para dar el producto como un aceite amarillo (1,515 g, 86%). EM (Electrospray) m/e 210 (M+H), calc. para C₁₁H₁₂ClNO, 209.

25 Paso 3



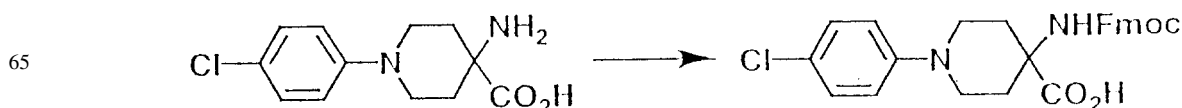
35 A una solución de la cetona (1,465 g, 6,986 mmol) en etanol (75 ml) y agua (25 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (5,36 g, 55,88 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (1,135 g, 17,46 mmol, 2,5 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción enfriada se concentró al vacío y el residuo se trató con agua, se extrajo con EtOAc (4x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron, para dar la hidantonía espectroscópicamente pura como un sólido blanco (1,817 g, 93% rendimiento). EM (Electrospray) m/e 280 (M+H), calc. para C₁₃H₁₄ClN₃O₂, 279.

45 Paso 4



55 La hidantonía (1,768 g) se suspendió en NaOH acuoso (50 ml, 6N) y se calentó a 130°C durante 4 días. Al completarse la hidrólisis (por HPLC), la mezcla de reacción se neutralizó con HCl conc. a levemente ácido (pH ~6). La suspensión resultante se filtró, se lavó con agua y se secó, para dar ácido 4-amino-1-(4-clorofenil)piperidina-4-carboxílico (4-ClAPPC) como un sólido blanco (2,05 g, >100% rendimiento, húmedo y contaminado con sal inorgánica), el cual mostró un único pico en HPLC, y se usó directamente en el siguiente paso. EM (Electrospray) m/e 253 (M-H), calc. para C₁₂H₁₅ClN₂O₂, 254

60 Paso 5



ES 2 304 128 T3

El amino ácido 4-CIAPPC crudo del último paso se suspendió en dioxano (100 ml) y Na_2CO_3 al 10% acuoso (50 ml), se trató con Fmoc-Cl (2,0 g, 7,75 mmol, 1,2 equiv.) y se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción luego se concentró para remover dioxano, se neutralizó con HCl 6N a levemente ácido (pH 6) y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na_2SO_4 . La separación del solvente proporcionó el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía instantánea (hexano/EtOAc a $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$), para dar Fmoc-4-CIAPPC puro (1,18 g, 81% rendimiento total para dos pasos). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): 7,87 (d, 2H), 7,71 (d, 2H), 7,39 (td, 2H), 7,30 (td, 2H), 7,20 (d, 2H), 6,92 (d, 2H), 3,44 (d, 2H), 2,93 (t, 2H); EM (Electrospray) m/e 477 (M+H), calc. Para $\text{C}_{27}\text{H}_{25}\text{N}_2\text{O}_4$, 467.

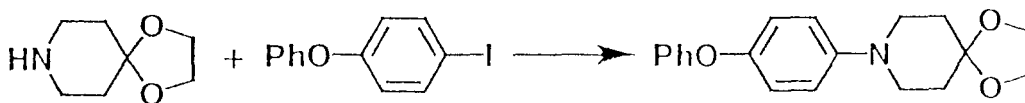
10

Ejemplo 21

Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-(4-fenoxifenil) piperidina-4-carboxílico (Fmoc-4-PhOAppc-OH)

15 Paso 1

20



25

A una solución de 1-yodo-4-fenoxibenceno (3,15 g, 10,6 mmol), 1,4-dioxa-8-azaspiro [4,5] decano (3,3 ml, 3,66 g, 25,6 mmol, 2,4 equiv.) y ter-butóxido de sodio (2,85 g, 29,7 mmol, 2,8 equiv.) en dioxano seco (40 ml) se agregaron tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (48,5 mg, 0,053 mmol) y tri-*o*-tolil-fosfina (64 mg, 0,4 mmol). La reacción se calentó a 90°C durante 9 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron, para dar un aceite pardo. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 a 80/20), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (2,805 g, 85%). ^1H RMN (CDCl_3), 7,26-7,32 (m, 2H), 7,03 (t, 1H); 6,92-6,97 (m, 6H), 4,00 (s, 4H); 3,26 (t, 4H), 1,86 (t, 4H).

30

35 Paso 2

40



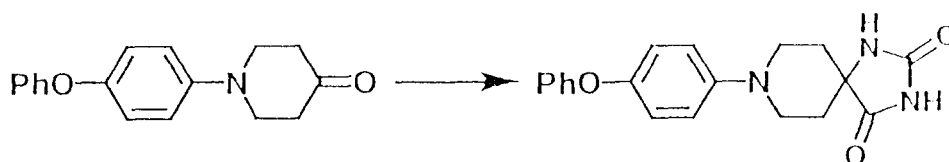
45

A una solución del cetal (2,755 g, 8,86 mmol) en acetona (90 ml) se agregó ácido clorhídrico 6 N (45 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se diluyó con EtOAc y se neutralizó con NaOH 6 N acuoso. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron, para dar el producto crudo, el cual se purificó en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 a 70/30), para dar el producto con un aceite amarillo (2,21 g, 93%). EM (Electrospray) m/e 268 (M+H), calc. para $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{ClNO}_2$, 267.

50

55 Paso 3

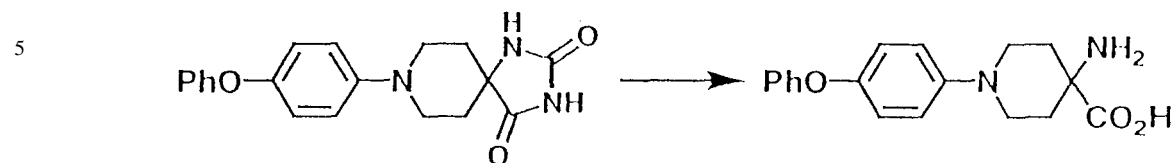
60



65

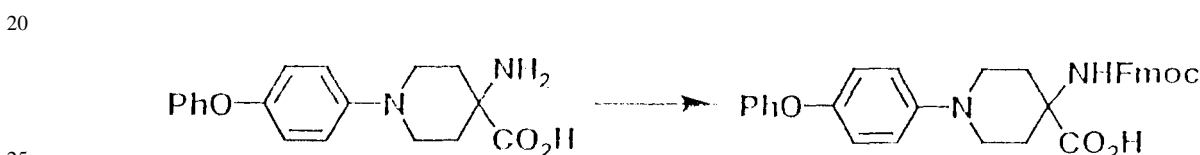
A una solución de la cetona (2,01 g, 7,52 mmol) en etanol (80 ml) y agua (25 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (5,78 g, 60,0 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (1,22 g, 18,80 mmol, 2,5 equiv.). La mezcla se calentó a $80-90^\circ\text{C}$ durante 18 horas. La mezcla de reacción enfriada se concentró al vacío y el residuo se trató con agua, se extrajo con EtOAc (4x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentraron, para dar la hidantoina espectroscópicamente pura como un sólido blanco (2,34 g, 95% rendimiento). EM (Electrospray) m/e 338 (M+H), calc. para $\text{C}_{19}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$, 337.

Paso 4



15 La hidantoniá (2,28 g, 6,76 mmol) se suspendió en NaOH acuoso (60 ml, 6N) y se calentó a 130°C durante 4 días. Al completarse la hidrólisis (por HPLC), la mezcla de reacción se neutralizó con HCl conc. a levemente ácido (pH ~6). La suspensión resultante se filtró, se lavó con agua y se secó, para dar ácido 4-amino-1-(4-fenoxifenil)piperidina-4-carboxílico (4-PhOAPPC) como un sólido blanco (2,53 g, > 100% rendimiento, húmedo y contaminado con sal inorgánica), el cual mostró un único pico en HPLC, y se usó directamente en el siguiente paso. EM (Electrospray) m/e 313 (M+H), calc. para C₁₈H₂₀N₂O₃, 312.

Paso 5



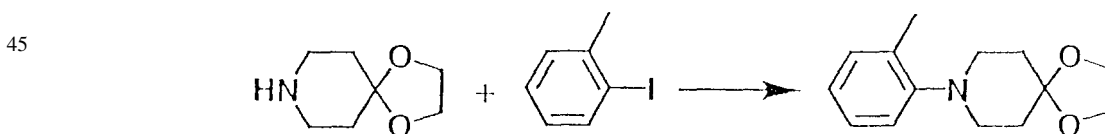
30 El 4-PhOAPPC crudo del último paso se trató con Fmoc-Cl (2,6 g, 1,25 equiv.) en dioxano (50 ml) y Na₂CO₃ al 10% acuoso (50 ml), y se agitó vigorosamente durante la noche. La mezcla de reacción luego se concentró para separar dioxano, se neutralizó con HCl 6N a levemente ácido (pH 6) y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. La separación del solvente proporcionó el producto crudo, el cual se purificó por cromatografía instantánea (hexano/EtOAc a CH₂Cl₂/MeOH), para dar 4-PhOAPPC puro (2,18 g, 60% rendimiento total para dos pasos). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,87 (d, 2H), 7,72 (d, 2H), 7,38 (t, 2H), 7,30 (td, 2H), 7,02 (dt, 1H), 6,86-6,96 (m, 6H), 3,35 (m, 2H), 2,94 (t, 2H); EM (Electrospray) m/e 535 (M+H), calc. para C₃₃H₃₀N₂O₅, 534.

35

Ejemplo 22

40 *Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-(2-metilfenil) piperidina-4-carboxílico (Fmoc-2-MeAppc-OH)*

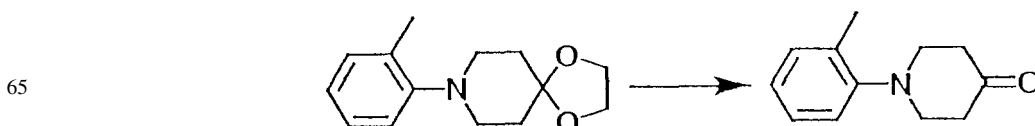
Paso 1



55 A una solución de 2-yodotolueno (4,36 g, 2,5 ml, 20,0 mmol), 1,4-dioxa-8-azaspiro [4,5] decano (6,88 g, 6,2 ml, 48,1 mmol, 2,4 equiv.) y ter-butóxido de sodio (5,3 g, 55,2 mmol, 2,8 equiv.) en dioxano seco (80 ml) se agregaron tris (dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (91 mg, 0,1 mmol) y tri-*o*-tolil-fosfina (122 mg, 0,4 mmol). La reacción se calentó a 90°C durante 26 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, para dar un aceite pardo. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 a 75/25), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (2,66 g, 57%). ¹H RMN (CDCl₃), 7,12-7,18 (m, 2H), 6,94-7,06 (m, 2H), 4,01 (s, 4H), 2,98 (t, 4H) y 1,88 (t, 4H).

60

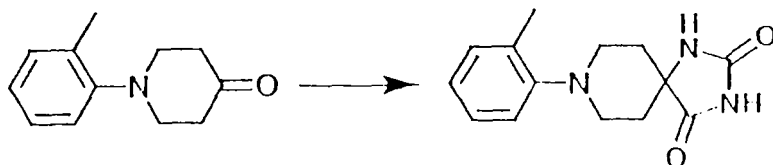
Paso 2



ES 2 304 128 T3

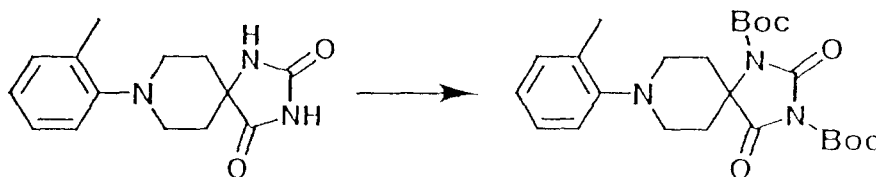
A una solución del cetal (2,66 g, 11,4 mmol) en acetona (70 ml) se agregó ácido clorhídrico 6N (35 ml) y la reacción se calentó a 85°C durante la noche. La reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se diluyó con EtOAc y se neutralizó con NaOH acuoso (6 N). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El producto crudo se purificó en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 70/30), para dar el producto como un aceite amarillo (2,04 g, 95%). EM (Electrospray) m/e 190 (M+H), calc. para C₁₂H₁₅NO, 189.

Paso 3



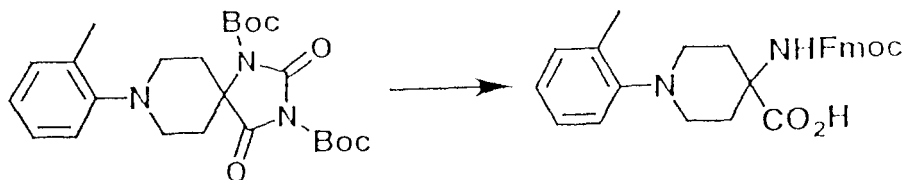
A una solución de la cetona (1,54 g, 8,15 mmol) en etanol (60 ml) y agua (20 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (4,69 g, 48,9 mmol, 6 equiv.) y cianuro de potasio (800 g, 12,2 mmol, 1,5 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (300 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó a fondo con agua y se secó, para dar la hidantoína como un sólido blanco (2,01 g, 95% rendimiento). EM (Electrospray) m/e 260 (M+H), calc. para C₁₄H₁₇N₃O₂, 259.

Paso 4



A una suspensión de la hidantoína (1,07 g, 4,13 mmol) en THF seco (25 ml) se agregaron di-ter-butyl dicarbonato (2,25 g, 10,32 mmol, 2,5 equiv.) trietilamino (0,63 ml, 460 mg, 4,54 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (36 mg, 0,29 mmol) en sucesión. Aproximadamente 15 minutos luego de la adición, la reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para rendir un sólido que luego fue tomado en EtOAc (300 ml), lavado con HCl 1 N (3 x 30 ml), Na₂CO₃ acuoso saturado (2 x 30 ml) y salmuera (2 x 30 ml), secado sobre Na₂SO₄ anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 80/20), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (1,71 g, 90%). EM (Electrospray) m/e 460 (M+H)⁺, cal. para C₂₄H₃₃N₃O₆, 459.

Paso 5



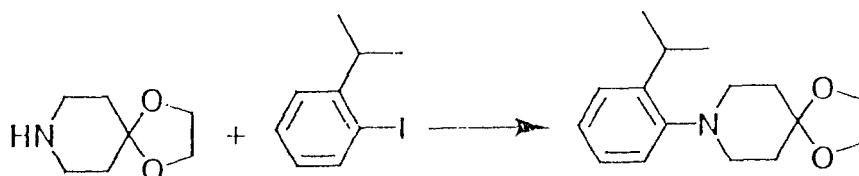
La bis-Boc hidantoína (1,71 g, 3,72 mmol) se disolvió en DME (23 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (33 ml, 33 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla bastante clara. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 4-amino-1-(2-metilfenil)piperidina-4-carboxílico (2-MeAPPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. Esta solución (30 ml) luego se diluyó con 1,4-dioxano (30 ml) y se trató con Fmoc-Cl (1,28 g, 4,96 mmol, 1,3 equiv.) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover dioxano, se neutralizó con HCl 1 N, y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc → CH₂Cl₂/MeOH), para dar el producto puro como un sólido blanco (1,09 g, 64% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (DMSO-d₆): 7,87 (d, 2H), 7,74 (d, 2H), 7,40 (td, 2H), 7,21 (td, 2H), 7,12 (m, 2H), 6,97 (d, 1H), 6,92 (td, 1H), 2,72-2,88 (m, 4H) y 2,22 (s, 3H); EM (Electrospray) m/e 457 (M+H), calc. para C₂₈H₂₈N₂O₄, 456.

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 23

Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-(2-isopropilfenil) piperidina-4-carboxílico (Fmoc-2-iPrAppc-OH)

5 Paso 1



10

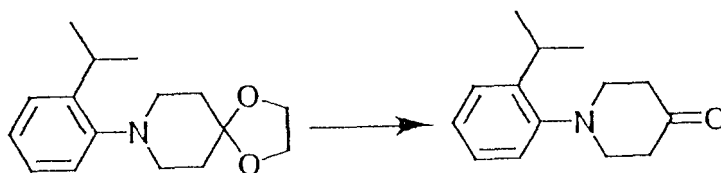
15

20

25

A una solución de 1-yodo-2-iso-propilbenceno (10,0 g, 40,7 mmol), 1,4-dioxa-8-azaspiro [4,5] decano (12,0 ml, 13,3 g, 93,0 mmol, 2,3 equiv.) y ter-butóxido de sodio (10,0 g, 104,2 mmol, 2,6 equiv.) en dioxano seco (160 ml) se agregaron tris(dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (180 mg, 0,197 mmol) y tri-*o*-tolil-fosfina (244 mg, 0,80 mmol), y la reacción se calentó a 90°C durante 26 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente, se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, para dar un aceite pardo. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 → 75/25), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (3,61 g, 35% rendimiento). EM m/z 262 (M+H), calc. para C₁₆H₂₃NO₂, 261.

Paso 2



30

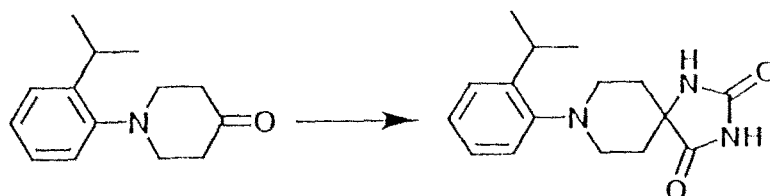
35

40

A una solución del cetal (3,24 g, 12,4 mmol) en acetona (90 ml) se agregó ácido clorhídrico 6 N (45 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente, y el residuo se diluyó con EtOAc, se neutralizó con NaOH acuoso (6 N). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El producto crudo se purificó en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 70/30), para dar el producto como un aceite amarillo (2,42 g, 89%). ¹H RMN (CDCl₃): 7,27 (m, 1H), 7,04-7,19 (m, 3H), 3,58 (m, 1H), 3,20 (t, 4H), 2,60 (t, 4H) y 1,25 (d, 6H); EM m/z 218 (M+H), calc. para C₁₄H₁₉NO, 217.

45

Paso 3



50

55

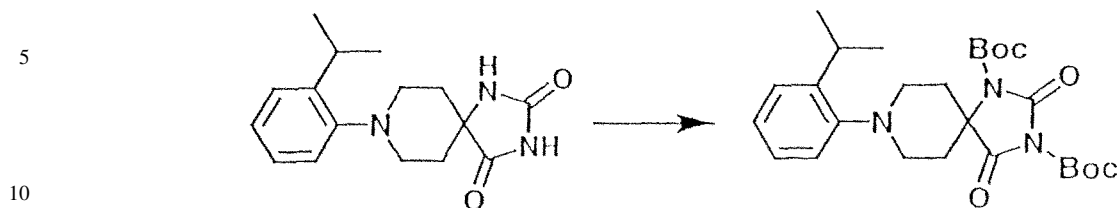
60

A una solución de la cetona (2,30 g, 10,6 mmol) en etanol (90 ml) y agua (20 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (8,1 g, 84,3 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (1,72 g, 26,5 mmol, 2,5 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (400 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó completamente con agua y se secó, para dar la hidantoína como un sólido blanco (2,78 g, 91% rendimiento). EM m/z 288 (M+H), calc. para C₁₆H₂₁N₃O₂, 287

65

ES 2 304 128 T3

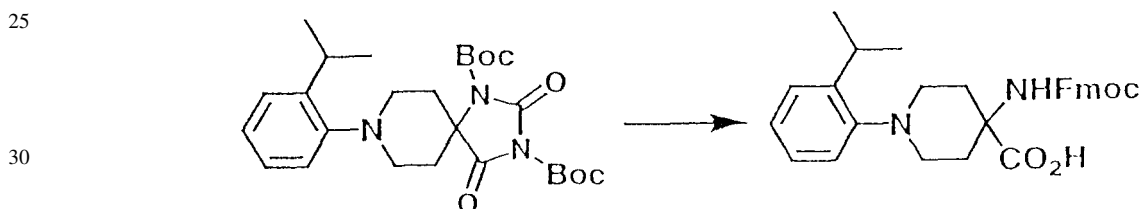
Paso 4



15 A una suspensión de la hidantoína (2,74 g, 9,54 mmol) en THF seco (100 ml) se agregaron di-ter-butyl dicarbonato (5,2 g, 24,24 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (1,5 ml, 1,07 g, 10,5 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (46 mg, 0,29 mmol) en sucesión. Aproximadamente 15 minutos luego de la adición, la reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para dar un sólido que luego fue tomado en EtOAc (300 ml), lavado con salmuera (3 x 30 ml), secado sobre Na₂SO₄ anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 80/20), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (4,39 g, 94% rendimiento). EM m/z 488 (M+H), calc. para C₂₆H₃₇N₃O₆, 487.

20

Paso 5



35 La bis-Boc hidantoína (2,34 g, 4,8 mmol) se disolvió en DME (30 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1N (45 ml, 45 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla bastante clara. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 4-amino-1-(2-isopropilfenil)piperidina-4-carboxílico (2-iPrAPPC) se trató con HCl 6 N para ajustar el pH a 11-12. Esta solución (~45 ml) luego se diluyó con 1,4-dioxano (45 ml) y se trató con Fmoc-Cl (1,78 g, 6,89 mmol, 1,5 equiv.) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar dioxano, se neutralizó con HCl 1 N, y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc → CH₂Cl₂/MeOH), para dar el producto puro como un sólido blanco (1,46 g, 63% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). HREM m/z 507,2263, calc. para C₃₀H₃₂N₂O₄Na, 507,2260.

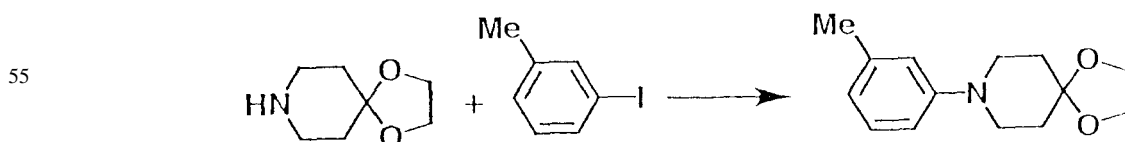
40

45

Ejemplo 24

Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-(3-metilfenil) piperidina-4-carboxílico (Fmoc-3-MeAppc-OH)

Paso 1

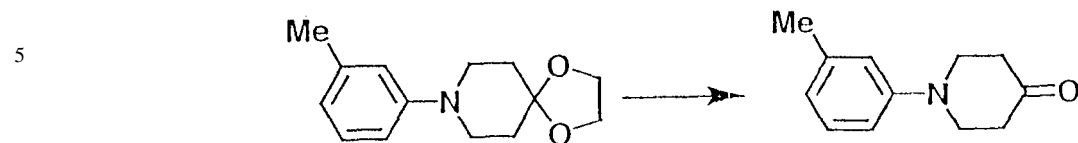


60 A una solución de 3-yodotolueno (4,36 g, 2,6 ml, 20,0 mmol), 1,4-dioxo-8-azaspiro [4,5] decano (6,88 g, 6,2 ml, 48,1 mmol, 2,4 equiv.) y ter-butóxido de sodio (5,3 g, 55,2 mmol, 2,8 equiv.) en dioxano seco (80 ml) se agregaron tris (dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (91 mg, 0,1 mmol) y ti-o-tolilfosfina (122 mg, 0,4 mmol). La reacción se calentó a 90°C durante 26 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, para dar un aceite pardo. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 a 75/25), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (3,21 g, 69%).

65

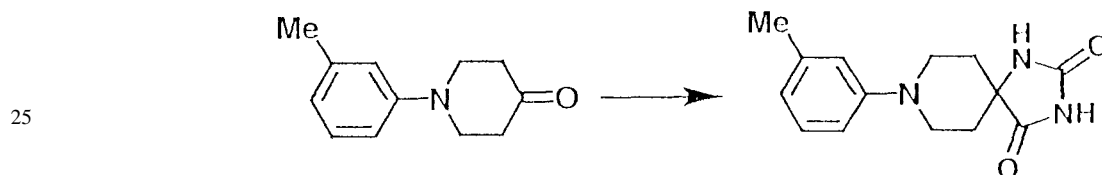
ES 2 304 128 T3

Paso 2



15 A una solución del cetal (1,25 g, 5,36 mmol) en acetona (20 ml) se agregó ácido clorhídrico 6 N (10 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La reacción resultante se concentró para remover solvente. El residuo se diluyó con EtOAc y se neutralizó con NaOH acuoso (6 N). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron. El producto crudo se purificó en cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 a 70/30), para dar el producto como un aceite amarillo (843 mg, 83% rendimiento). EM m/z 190 (M+H), calc. para $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{NO}$, 189.

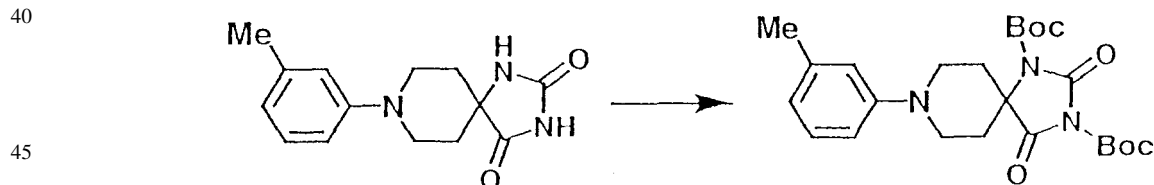
Paso 3



30 A una solución de la cetona (763 g, 4,03 mmol) en etanol (45 ml) y agua (15 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (3,09 g, 32,21 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (675 mg, 10,38 mmol, 2,5 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (200 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó a fondo con agua y se secó, para dar la hidantoína como un sólido blanco (930 mg, 89% rendimiento). EM m/z 260 (M+H), calc. para $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$, 259.

35

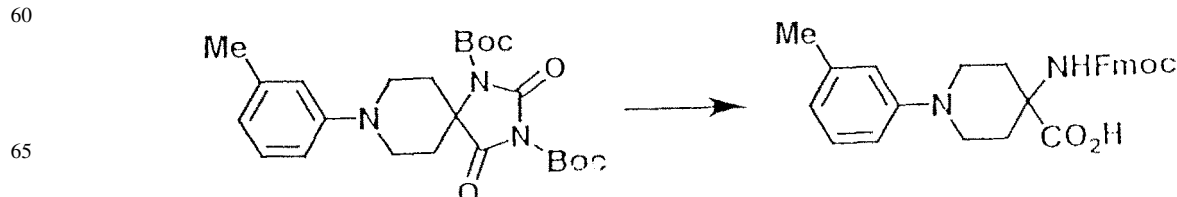
Paso 4



50 A una suspensión de la hidantoína (780 mg, 3,012 mmol) en THF seco (22 ml) se agregaron di-ter-butyl dicarbonato (1,64 g, 7,52 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (0,42 ml, 305 mg, 3,01 mmol, 1,0 equiv.) y DMAP (20 mg, 0,164 mmol) en sucesión. Aproximadamente 15 minutos luego de la adición, la reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para dar un sólido que luego fue tomado en EtOAc (300 ml), lavado con salmuera (3 x 30 ml), secado sobre Na_2SO_4 anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 \rightarrow 80/20), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (1,37 g, cuantitativo). HREM m/z 482,2261 (M+Na)⁺, calc. para $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_6\text{Na}$, 482,2267.

55

Paso 5



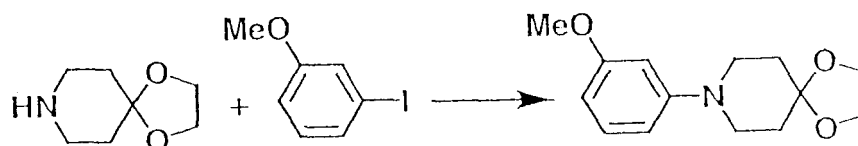
ES 2 304 128 T3

La bis-Boc hidantoína (1,29 g, 2,818 mmol) se disolvió en DME (20 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (25 ml, 25 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla bastante clara. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 4-amino-1-(3-metilfenil)piperidina-4-carboxílico (3-MeAPFC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. Esta solución (30 ml) luego se diluyó con 1,4-dioxano (30 ml) y se trató con Fmoc-Cl (1,46 mg, 5,65 mmol, 2,0 equiv.) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar dioxano, se neutralizó con HCl 1 N, y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc → CH₂Cl₂/MeOH), para dar el producto puro como un sólido blanco (1,002 g, 78% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). HREM m/z 479,1940 (M+Na), calc. para C₂₈H₂₈N₂O₄Na, 479,1947.

15 Ejemplo 25

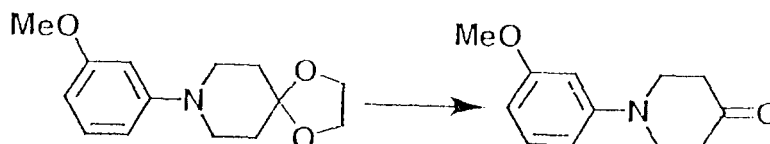
Preparación de ácido Fmoc-4-amino-1-(3-metoxifenil)-piperidina-4-carboxílico (Fmoc-3-MeOAppc-OH)

Paso 1



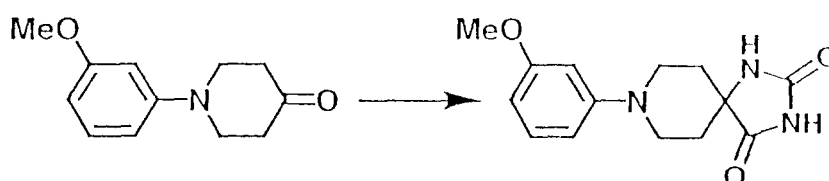
A una solución de 3-yodoanisol (4,68 g, 2,4 ml, 20,0 mmol), 1,4-dioxo-8-azaspiro [4,5] decano (6,2 ml, 6,88 g, 48,1 mmol, 2,4 equiv.) y ter-butoxido de sodio (5,3 g, 55,2 mmol, 2,8 equiv.) en dioxano seco (80 ml) se agregaron tris (dibencilidenoacetona)dipaladio(0) (91 mg, 0,1 mmol) y tri-*o*-tolilfosfina (122 mg, 0,4 mmol), y la reacción se calentó a 90°C durante 26 horas. La mezcla de reacción resultante se concentró para separar solvente, y el residuo se trató con agua y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron, para dar un aceite pardo. Este producto crudo se purificó sobre cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 95/5 a 75/25), para proporcionar el producto puro como un sólido levemente amarillo (3,10 g, 62% rendimiento). EM m/z (M+H), 250 (M+H), calc. para C₁₄H₁₉NO₃, 249.

Paso 2



A una solución del cetal (3,10 g, 12,45 mmol) en acetona (90 ml) se agregó ácido clorhídrico 6 N (45 ml) y la reacción se calentó a reflujo durante la noche. La reacción resultante se concentró para separar solvente. El residuo se diluyó con EtOAc y se neutralizó con NaOH acuoso (6 N). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron. El producto crudo se purificó en cromatografía instantánea (hexano/ EtOAc, 90/10 a 70/30), para dar el producto como un aceite amarillo (2,53 g, 99% rendimiento). ¹H RMN (CDCl₃): 7,20 (m, 1H), 6,58 (d, 1H), 6,39-6,56 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,59 (m, 4H) y 2,58 (m, 4H).

Paso 3

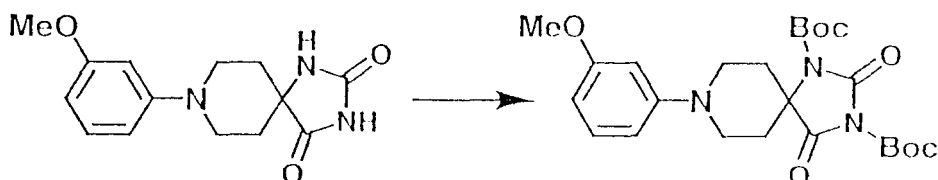


ES 2 304 128 T3

5 A una solución de la cetona (1,81 g, 8,82 mmol) en etanol (60 ml) y agua (20 ml) en una botella de presión de vidrio, se agregaron carbonato de amonio (6,77 g, 70,52 mmol, 8 equiv.) y cianuro de potasio (1,14 g, 17,6 mmol, 2,0 equiv.). La mezcla se calentó a 80-90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción enfriada se agregó a agua helada (200 ml) y se agitó vigorosamente durante 30 minutos. El precipitado resultante se filtró por succión, se lavó completamente con agua y se secó, para dar la hidantoína como un sólido blanco (2,23 g, 92% rendimiento). EM m/z 276 (M+H), calc. para C₁₄H₁₇N₃O₃, 275.

Paso 4

10



15

20

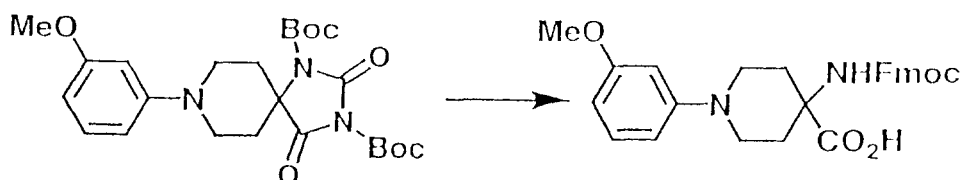
25

30

A una suspensión de la hidantoína (1,10 g, 4,00 mmol) en THF seco (50 ml) se agregaron di-ter-butyl dicarbonato (2,18 g, 10,0 mmol, 2,5 equiv.), trietilamina (0,62 ml, 445 mg, 4,4 mmol, 1,1 equiv.) y DMAP (20 mg, 0,164 mmol) en sucesión. Aproximadamente 15 minutos luego de la adición, la reacción se tornó una solución amarilla clara, y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida, para dar un sólido que luego fue tomado en EtOAc (300 ml), lavado con salmuera (3 x 30 ml), secado sobre Na₂SO₄ anhidro y concentrado bajo presión reducida. El producto amarillo claro crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc, 90/10 → 80/20), para dar la bis-Boc hidantoína pura como un sólido blanco (1,90 g, cuantitativo). ¹H RMN (CDCl₃): 7,16 (t, 1H), 6,57 (d, 1H), 6,24 (s, 1H), 6,19 (d, 1H), 3,77 (s, 3H), 1,58 (s, 9H), 1,42 (s, 9H); EM m/z 476 (M+H), calc. Para C₂₄H₃₃N₃O₇, 475.

Paso 5

35



40

45

50

55

60

65

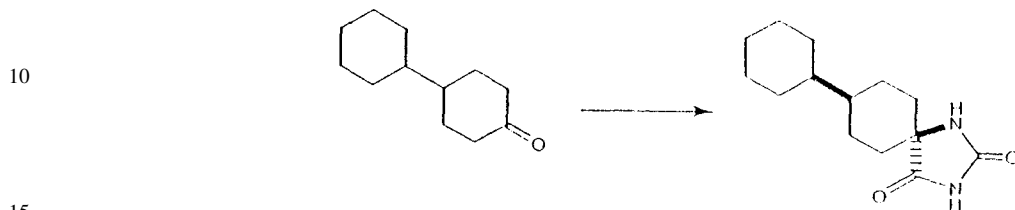
La bis-Boc hidantoína (1,06 g, 2,23 mmol) se disolvió en DME (20 ml), para dar una solución clara. A esta solución se agregó NaOH 1 N (20 ml, 20 mmol) y la reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente, proporcionando una mezcla bastante clara. HPLC mostró la finalización de la reacción. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para remover DME y se extrajo con Et₂O. Sin purificación, la capa acuosa resultante que contenía ácido 4-amino-1-(3-metoxifenil)piperidina-4-carboxílico (3-MeOAPPC) se trató con HCl 6N para ajustar el pH a 11-12. Esta solución (35 ml) luego se diluyó con 1,4-dioxano (35 ml) y se trató con Fmoc-Cl (755 mg, 2,93 mmol, 1,3 equiv.) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para separar dioxano, se neutralizó con HCl 1 N, y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó a través de cromatografía instantánea (hexano/EtOAc → CH₂Cl₂/MeOH), para dar el producto puro como un sólido blanco (668 mg, 63% rendimiento a partir de la bis-Boc hidantoína). ¹H RMN (CDCl₃): 7,83 (d, 2H), 7,72 (d, 2H), 7,41 (td, 2H), 7,34 (td, 2H), 7,16 (t, 1H), 6,52 (d, 1H), 6,42 (s, 1H), 6,36 (d, 1H), 4,25 (m, 3H), 3,68 (s, 3H), 3,23-3,40 (m, 2H), 2,96 (t, 2H) y 1,86-2,18 (m, 4H). HREM m/z 495,1901 (M+Na), calc. para C₂₈H₂₈N₂O₅Na, 495,1896.

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 26

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-ciclohexilciclohexano-1-carboxílico (Fmoc-Achc-OH)

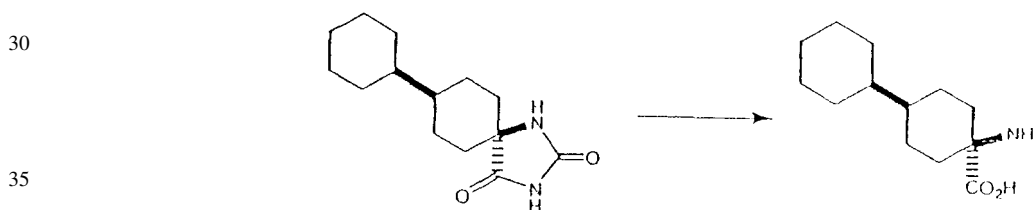
5 Paso 1



20 Una mezcla de 4-ciclohexilciclohexanona (3,00 g, 16,6 mmol), cianuro de potasio (1,63 g, 25,0 mmol), carbonato de amonio (9,59 g, 99,8 mmol), etanol (75 ml) y agua (15 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 15 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión blanca se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración, seguida de secado al aire, proporcionó hidantoína (6,10 g, aún húmeda, > 100% rendimiento) como un sólido blanco. ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 10,52 (1H, amplio, NH), 8,43 (1H, amplio s, NH), 0,80-1,80 (20H, m). LREM (APCI): C₁₄H₂₂N₂O₂, Calc. 250; observado: 249 (M-H), 251 (M-H).

25

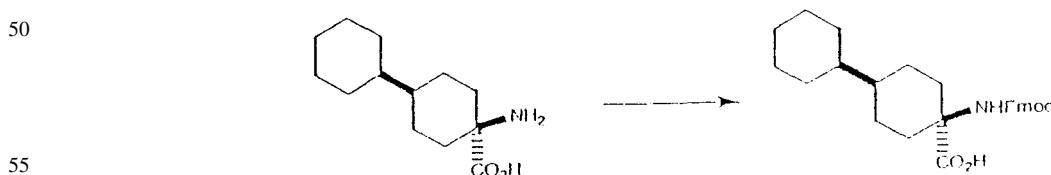
Paso 2



40 Una mezcla de hidantoína (1,39 g, 5,55 mmol) y solución de hidróxido de sodio 6 N (50 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 130°C durante 2 días. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo, se neutralizó a ~pH 7 usando ácido clorhídrico concentrado. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua, para dar ácido 1-ciclohexilciclohexanona-1-carboxílico crudo (48,3 g, húmedo y con contenido de sales inorgánicas, >100% rendimiento). LREM (Electrospray): C₁₃H₂₃NO₂, calc. 225; observado: 226 (M+H).

45

Paso 3



60 Una mezcla de ácido 1-amino-4-ciclohexilciclohexanona-1-carboxílico crudo (48,3 g, 5,55 mmol teórico), trietilamina (1,0 ml, 7,17 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 2,43 g, 7,20 mmol) en acetonitrilo (75 ml) y agua (75 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayoría del acetonitrilo, se acidificó a pH ~3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10% y la emulsión blanca se extrajo tres veces con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 1 → 5 → 8% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-1-amino-4-trans-ciclohexilciclohexanona-1-carboxílico (250 mg, 10% rendimiento para dos pasos). HREM (FAB): C₂₈H₃₄NO₄ (M+H) calc. 448,2488; observado: 448,2497.

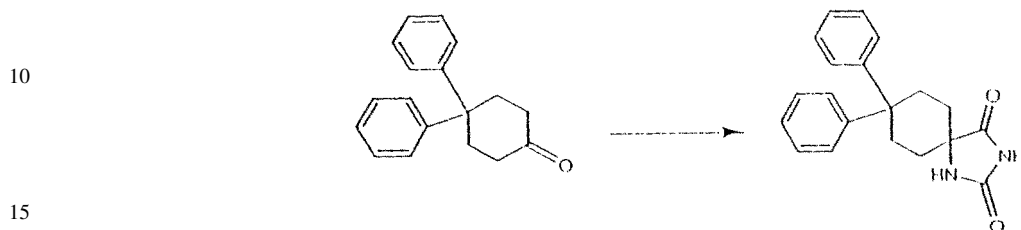
65

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 27

Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4,4-difenilciclohexano-1-carboxílico (Fmoc-Adpc-OH)

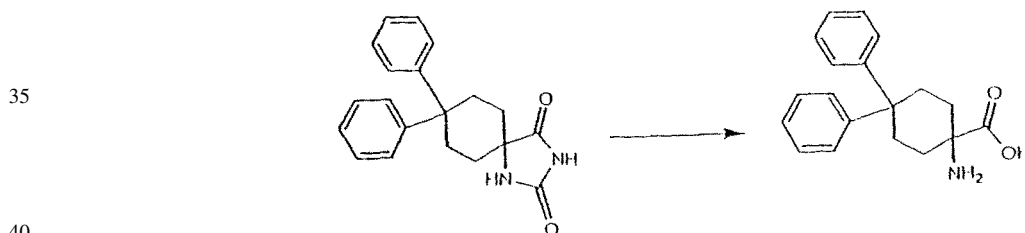
5 Paso 1



20 Una mezcla de 4,4-difenilciclohexanona (preparada por hidrogenación de 4,4-difenilciclohexanona de acuerdo con los procedimientos de Freeman, P. K. Y otros. J. Org. Chem. 1989, 54, 782-789) (1,55 g, 6,19 mmol), cianuro de potasio (0,65 g, 9,97 mmol), carbonato de amonio (3,60 g, 37,5 mmol), etanol (48 ml) y agua (12 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 24 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión blanca se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración y el secado al aire proporcionaron hidantoína (1,89 g, 95% rendimiento) como un sólido blanco. ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 10,57 (1H, amplio, NH), 8,59 (1H, amplio s, NH), 7,00-7,50 (10H, m, fenilo). LREM (Electrospray): C₂₀H₂₀N₂O₂, calc. 320; observado: 319 (M-H).

25

30 Paso 2

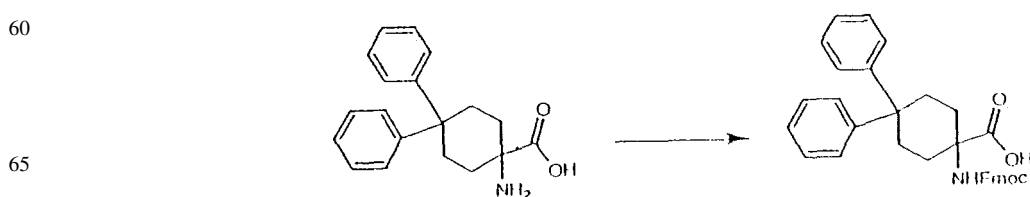


45 Una mezcla de hidantoína (1,88 g, 5,87 mmol), hidróxido de bario, monohidrato (5,60 g, 29,6 mmol) y agua (100 ml, demasiado diluida) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 105°C durante 2 días. Se agregó más hidróxido de bario, monohidrato (5,60 g, 29,6 mmol) y la mezcla se calentó en un baño de aceite a 105°C durante otras 24 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se acidificó a ~pH 3 usando ácido sulfúrico 4N, mientras se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante dos horas, y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío, a ~30 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitados blancos, los cuales se filtraron, se lavaron con agua y se secaron al vacío durante la noche, para dar ácido 1-amino-4,4-difenilciclohexano-1-carboxílico crudo (0,52 g, 30% rendimiento) como un sólido blanco. LREM (Electrospray): C₁₉H₂₁NO₂, calc. 295; observado: 294 (M-H), 296 (M+H).

50

55

60 Paso 3



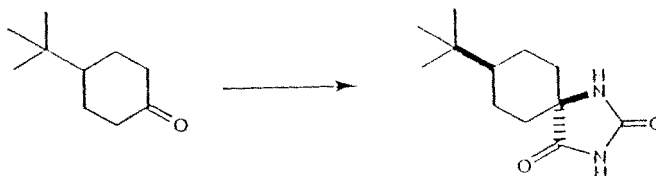
ES 2 304 128 T3

Una mezcla de ácido 1-amino-4,4-difenilciclohexano-1-carboxílico crudo (510 mg, 1,73 mmol), trietilamina (0,377 ml, 2,65 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 880 mg, 2,61 mmol) en acetonitrilo (25 ml) y agua (25 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El análisis TLC de la reacción indicó la presencia de material inicial aminoácido. Se agregaron carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (200 mg) y acetonitrilo (5 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otras 24 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío para separar la mayoría del acetonitrilo, se acidificó a pH ~3 con solución de ácido cítrico acuoso al 10% y la emulsión blanca se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio. La filtración y la concentración proporcionaron un aceite crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 1 → 4 → 8% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-1-amino-4,4-difenilciclohexano-1-carboxílico (350 mg, 39% rendimiento) como un sólido blanco. HREM (FAB): $C_{34}H_{32}NO_4$ (M+H) calc. 518,2331; observado: 518,231.

Ejemplo 28

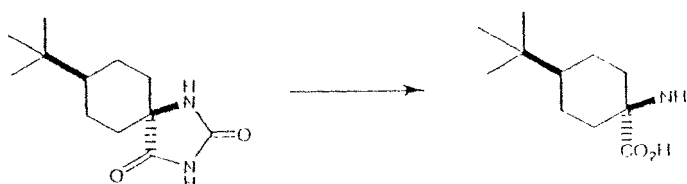
Preparación de ácido Fmoc-1-amino-4-trans-t-butilciclo-hexano-1-carboxílico (Fmoc-Abc-OH)

Paso 1



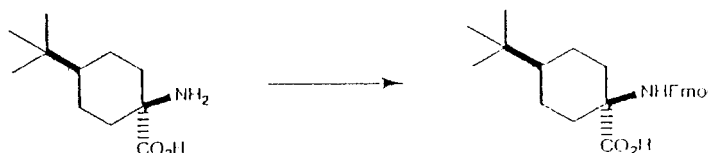
Una mezcla de 4-t-butilciclohexanona (2,00 g, 13,0 mmol), cianuro de potasio (1,27 g, 19,5 mmol), carbonato de amonio (7,48 g, 77,8 mmol), etanol (60 ml) y agua (12 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 80°C durante 15 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la suspensión blanca se volcó en hielo-agua y se agitó a temperatura ambiente durante un par de horas. La filtración proporcionó hidantoína (2,78 g, 96% rendimiento) como un sólido blanco, el cual se usó en el siguiente paso como un crudo. 1H RMN (DMSO- d_6) δ 10,52 (1H, amplio, NH), 8,50 (1H, amplio s, NH), 0,81 (9H, s, t-Bu).

Paso 2



Una mezcla de hidantoína (2,78 g, 12,4 mmol), hidróxido de bario, monohidrato (11,74 g, 62,0 mmol) y agua (50 ml) en un recipiente de presión de pared gruesa, sellado, se calentó en un baño de aceite a 120°C durante 2 días. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se acidificó a ~pH 3 usando ácido sulfúrico 4N, mientras se agitaba vigorosamente. La suspensión se agitó en un baño de agua hirviendo durante una hora, y se enfrió hasta temperatura ambiente. La suspensión blanca se filtró y los precipitados se enjuagaron con agua. El filtrado y los lavados combinados se concentraron al vacío, a ~30 ml. La neutralización con solución de hidróxido de amonio concentrado proporcionó precipitados blancos, los cuales se filtraron, se lavaron con agua y se secaron al vacío durante la noche, para dar ácido 1-amino-4-trans-t-butilciclohexano-1-carboxílico (2,10 g, 85% rendimiento) como un sólido blanco.

Paso 3



ES 2 304 128 T3

Una mezcla de ácido 1-amino-4-trans-t-butilciclohexil-1-carboxílico crudo (2,10 g, 10,54 mmol), carbonato de 9-fluorenilmetil succinimidilo (Fmoc-OSu, 6,33 g, 7,20 mmol) en dioxano (150 ml) y solución de carbonato de sodio al 10% (120 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío para remover la mayoría del dioxano, se acidificó a pH ~3 con HCl 3N, y la emulsión blanca se extrajo dos veces con cloruro de metileno. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio. La filtración y la concentración proporcionaron un crudo, el cual fue purificado por cromatografía de columna (eluido con 1 → 4 → 5% metanol/cloruro de metileno), para dar ácido Fmoc-1-amino-4-trans-t-butilciclohexano-1-carboxílico (1,42 g, 32% rendimiento). HREM (FAB): C₂₆H₃₂NO₄ (M+H), calc. 422,2331; observado: 422,23.

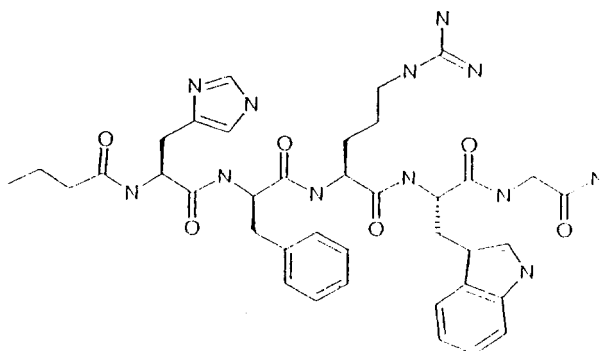
Ejemplo 29

Preparación de Resina Fmoc-Conector-BHA

Se dilató resina reticulada de benzhidrilamina copoliéstereno-1% divinilbenceno (10,0 g, 9,3 mequiv, red 100-200 ASTM, Advanced Chem Tech), en 100 ml de CH₂Cl₂, se filtró y se lavó sucesivamente con 100 ml cada vez de CH₂Cl₂, DIPEA 6%/CH₂Cl₂ (dos veces), CH₂Cl₂ (dos veces). La resina se trató con ácido p-[(R,S)-α-[1-(9H-fluoren-9-il)-metoxiformamido]-2,4-dimetoxibencil]-fenoxiacético (Fmoc-Conector) (7,01 g, 13,0 mmol), N-hidroxibenzotriazol (2,16 g, 16,0 mmol) y diisopropilcarbodiimida (2,04 ml, 13,0 mmol) en 100 ml de DMF 25%/CH₂Cl₂, durante 24 horas a temperatura ambiente. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 100 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol (dos veces), DMF y CH₂Cl₂ (tres veces). Un análisis Kaiser de ninhidrina fue negativo. La resina se secó bajo vacío, para rendir 16,12 g de resina Fmoc-Conector-BHA. Una porción de esta resina (3,5 mg se sometió a desprotección de Fmoc, y el análisis de UV cuantitativo indicó una carga de 0,56 mmol/g.

Ejemplo 30

Preparación de Bu-His-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-His (Trt)* (300 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Bu-Pentapéptido.

La resina Bu-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 130 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 52 mg (34%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₃₈H₅₀N₁₂O₆ cal: 770, observado: m/z (771 M+H).

ES 2 304 128 T3

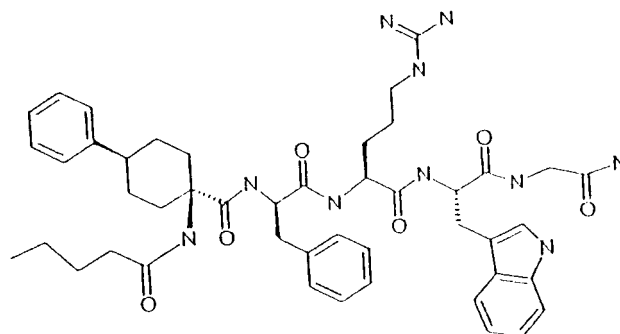
Ejemplo 31

Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15



20

25

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se pasó a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

30

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

35

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 61 mg (36%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₆H₁₀N₁₀O₆ cal: 849, observado: m/z (850 M+H).

40

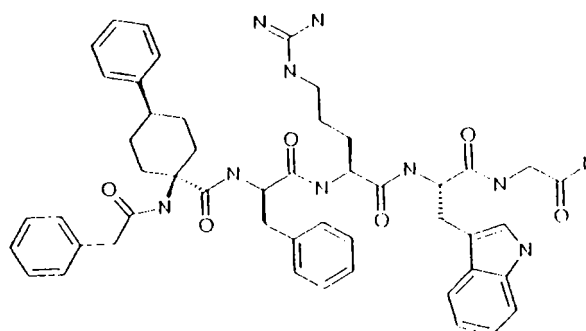
Ejemplo 32

Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

45

50

55



60

65

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con ácido fenilacético (82 mg,

ES 2 304 128 T3

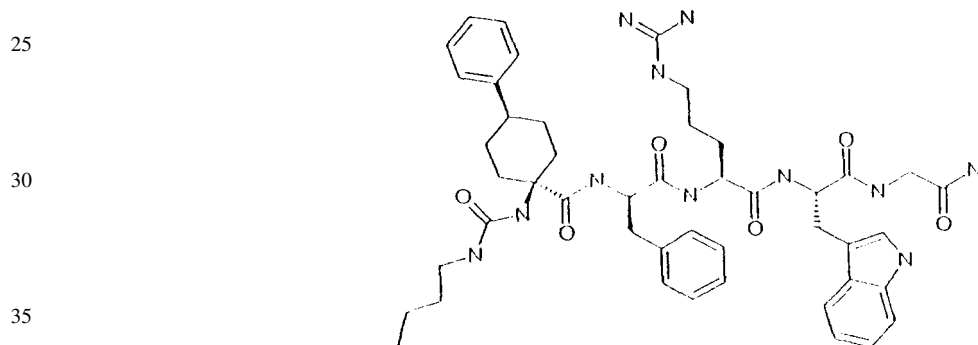
0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Fenilacetil-Pentapéptido.

5 La resina Fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 155 mg de un sólido blanquecino.

10 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 55 mg (31%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC.
15 LR-Electrospray C₄₉H₅₈N₁₀O₆ cal: 883, observado: m/z (884 M+H).

Ejemplo 33

20 *Bu-Carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂*



40 La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mal), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol)
45 y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con n-butil isocianato (5 eq.) en DIPEA 6%/DMF durante 12 horas. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 550 mg de resina Butil-urea-Pentapéptido.

50 La resina Butil-urea-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 135 mg de un sólido blanquecino.

55 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (31%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC.
60 LR-Electrospray C₄₆H₆₁N₁₁O₆ cal: 864, observado: m/z (865 M+H).

65

ES 2 304 128 T3

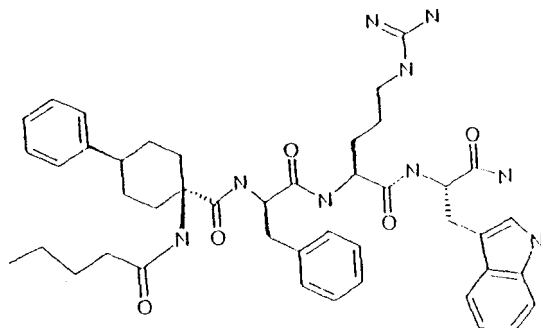
Ejemplo 34

Preparación de Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-NH₂

5

10

15



20

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cuatro ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se llevó a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 600 mg de resina pentil-tetrapéptido.

La resina Pentil-tetrapéptido se trató con 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para rendir 110 mg de un sólido blanquecino.

Este material se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 40 mg (25%) de un polvo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₄H₅₇N₉O₅ cal: 792, observado: m/z (793 M+H).

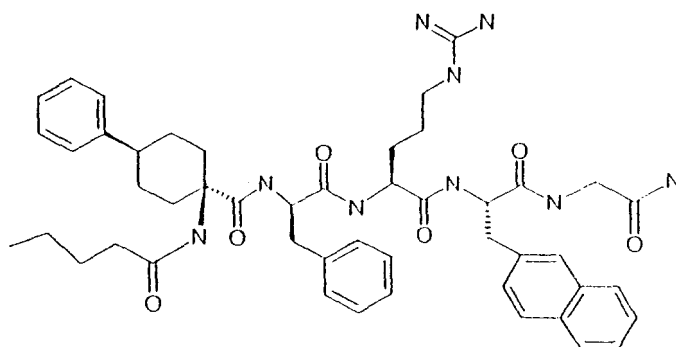
Ejemplo 35

Penta-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

50

55

60



65

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con

ES 2 304 128 T3

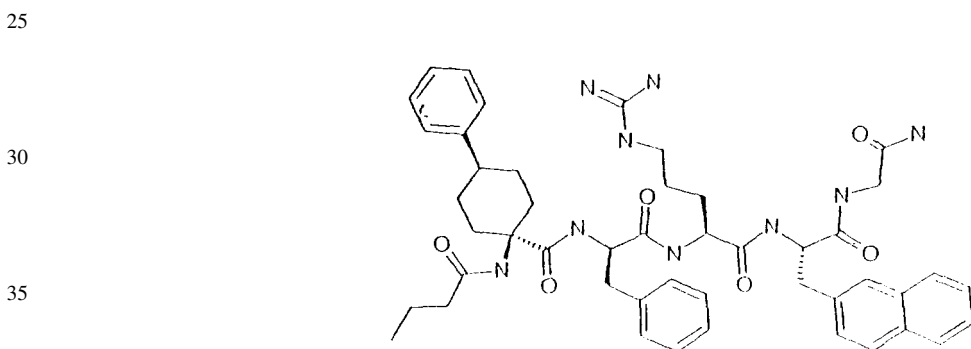
Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-2-Nal* (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se llevó a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 61 mg (36%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₈H₆₁N₉O₆ cal: 860, observado: m/z (861 M+H).

Ejemplo 36

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-2-Nal* (265 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido acético en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Butil-Pentapéptido.

La resina Butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para rendir 144 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 55 mg (32%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₅₉N₉O₆ cal: 846, observado: m/z (847 M+H).

ES 2 304 128 T3

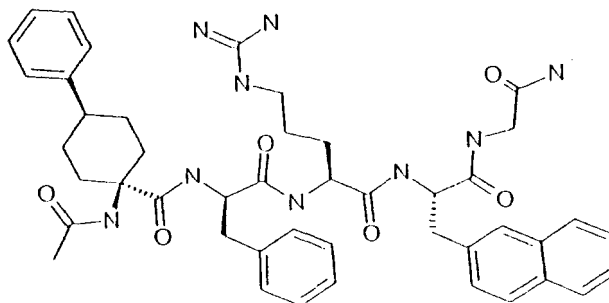
Ejemplo 37

Ac-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

5

10

15



20

25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-2-Nal* (265 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Arg (Pmc)* (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-(D)Phe* (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido acético en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 620 mg de resina Ac-Pentapéptido.

35

La resina Ac-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 150 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 62 mg (38%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₅H₅₅N₉O₆ cal: 818, observado: m/z (819 M+H).

45

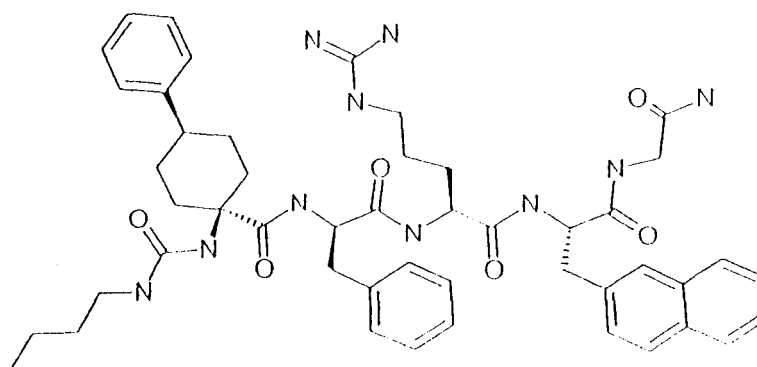
Ejemplo 38

Bu-Carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

50

55

60



65

ES 2 304 128 T3

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-2-Nal (265 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con n-butil isocianato (5 eq.) en DIPEA 6%/DMF durante 12 horas. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 550 mg de resina Butil-carbamoil-Pentapéptido.

La resina Butil-carbamoil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 135 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (31%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₈H₁₀N₁₀O₆ cal: 875, observado: m/z (876 M+H).

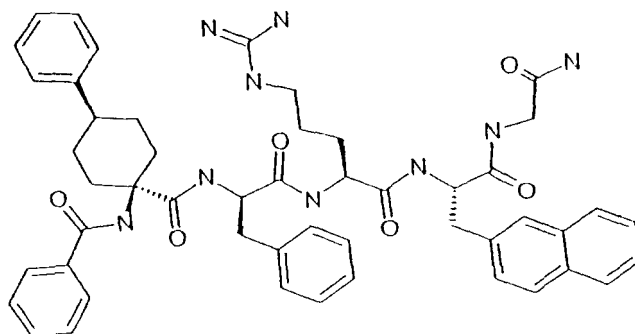
25 Ejemplo 39

Benzoil-Apc-(D)Phe-Arg-(2-Nal-Gly-NH₂)

30

35

40



45 La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mal) y HBTU (226 mg, 0,6 mal), *Fmoc-2-Nal* (265 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con anhídrido benzoico en DIPEA 6%/DMF durante 12 horas. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 570 mg de resina benzoil-Pentapéptido.

60 La resina benzoil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 130 mg de un sólido blanquecino.

65 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 50 mg (28%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₀H₅₇N₉O₆ cal: 880, observado: m/z (881 M+H).

Ejemplo 40

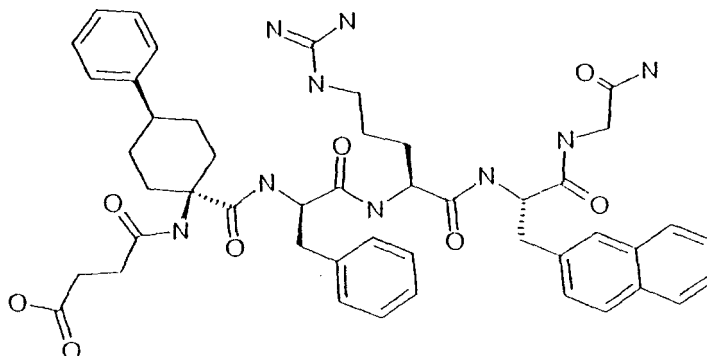
3-carboxipropanoil-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-2-Nal* (265 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con ácido succínico (71 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 550 mg de resina 3-carboxipropanoil-Pentapéptido.

35

La resina 3-carboxipropanoil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 136 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 52 mg (30%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₅₇N₉O₈ cal: 876, observado: m/z (877 M+H).

45

Ejemplo 41

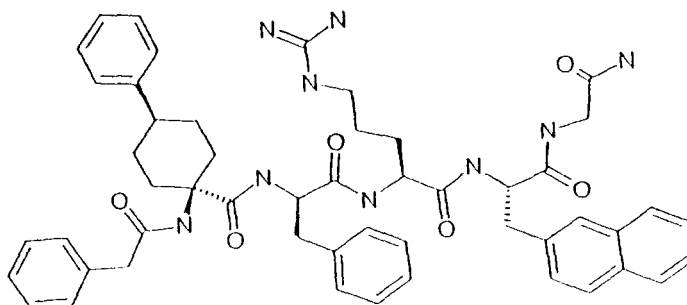
Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

50

55

60

65



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de

ES 2 304 128 T3

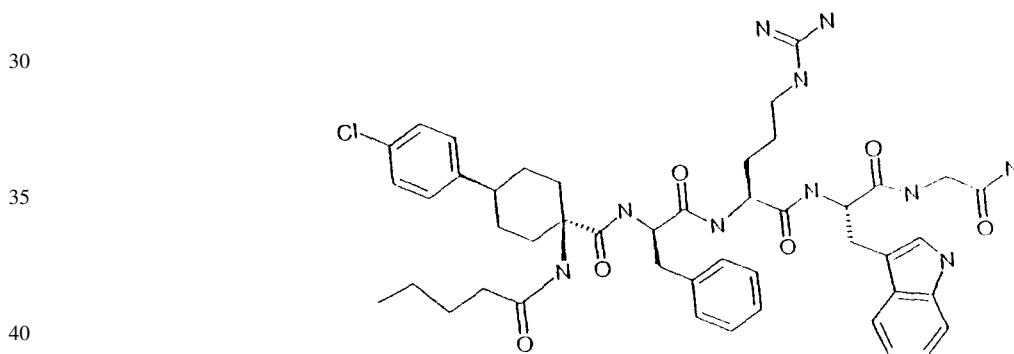
5 acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-2-Nal* (265 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Arg (Pmc)* (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-(D)Phe* (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con ácido fenilacético (82 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina fenilacetil-Pentapéptido.

10 La resina fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 132 mg de un sólido blanquecino.

15 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 49 mg (29%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC.
20 LR-Electrospray C₅₁H₅₉N₉O₆ cal: 894, observado: m/z (895 M+H).

Ejemplo 42

25 *Penta-4-ClApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂*



45 La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Trp* (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Arg (Pmc)* (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-(D)Phe* (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-4-ClApc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

55 La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 141 mg de un sólido blanquecino.

60 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 45 mg (26%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC.
65 LR-Electrospray C₄₆H₅₉N₁₀O₆Cl, cal: 883, observado: m/z (884 M+H).

Ejemplo 43

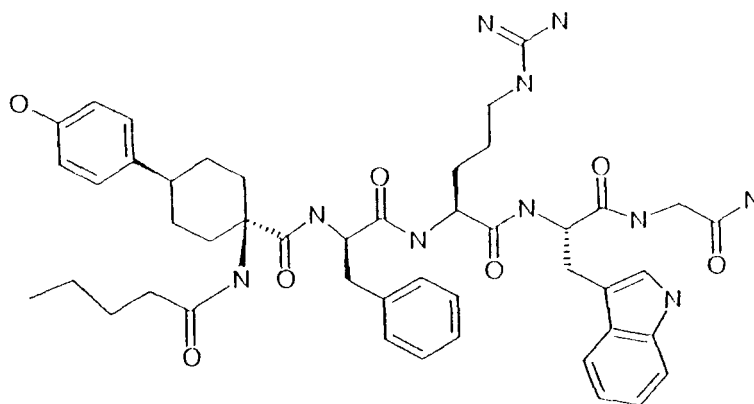
Penta-4-HOApC-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-4-HOApC* (280 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Pental-Pentapéptido.

35

La resina Pental-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 150 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (31%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₆H₆₀N₁₀O₇, cal: 865, observado: m/z (866 M+H).

45

Ejemplo 44

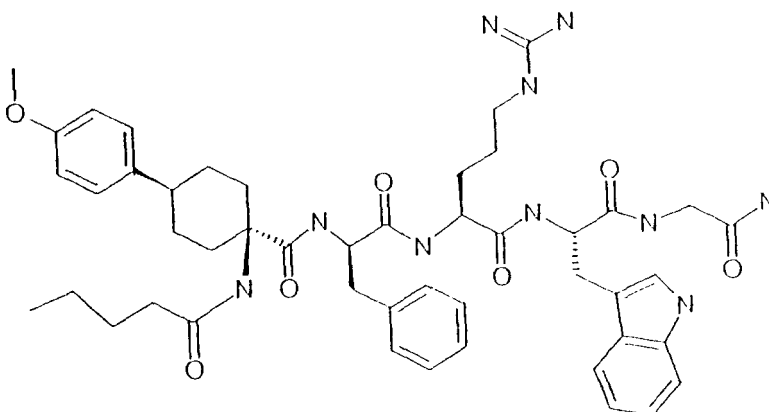
Penta-4-MeOApC-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

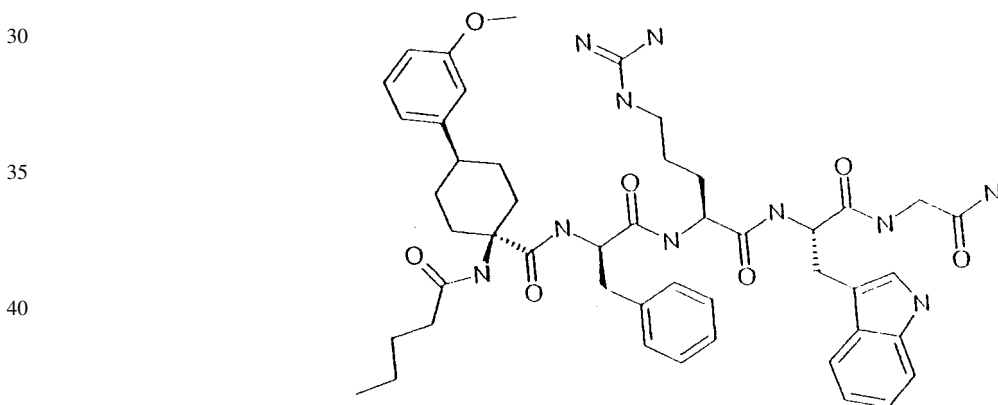
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-4-MeOApc* (300 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 152 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 59 mg (33%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₆₂N₁₀O₇, cal: 879, observado: m/z 880 (M+H).

25 Ejemplo 45

Penta-3-MeOApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-3-MeOApc* (300 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 152 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 59 mg (33%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₆₂N₁₀O₇, cal: 879, observado: 880 m/z (M+H).

Ejemplo 46

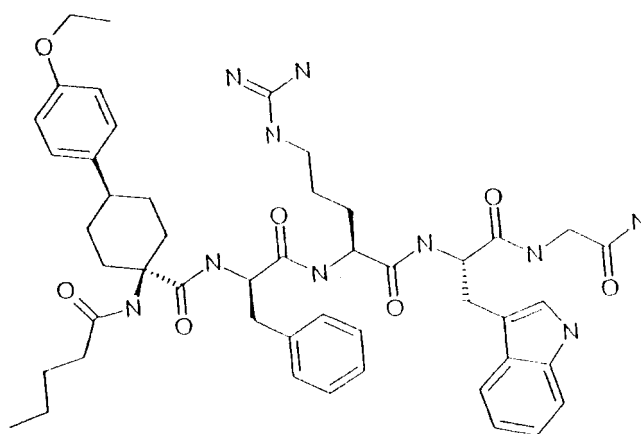
Penta-4-EtOAcP-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-4-EtOAcP* (320 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 615 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

35

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 160 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 63 mg (35%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₈H₆₄N₁₀O₇, cal: 893, observado: 894 m/z (M+H).

45

Ejemplo 47

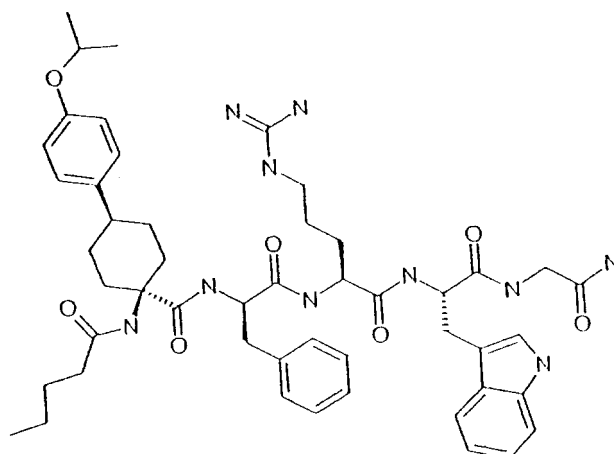
Penta-4-iPrOAcP-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

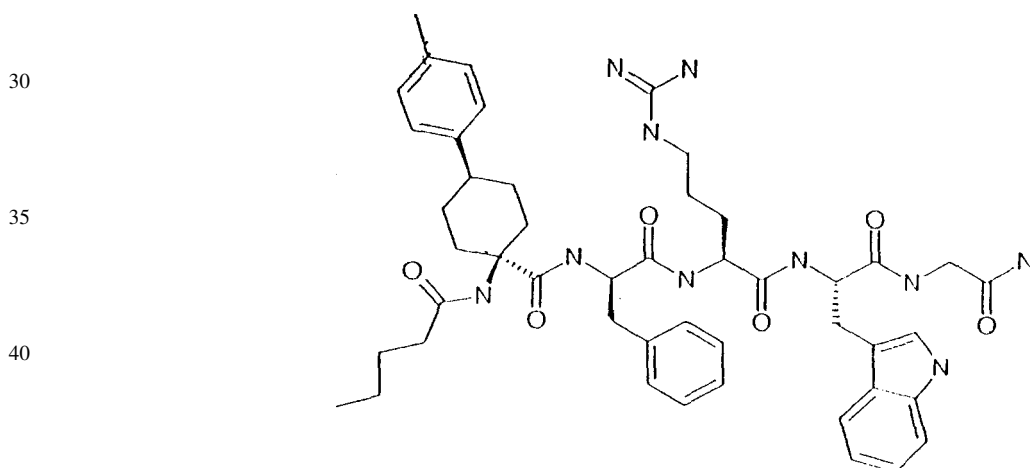
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-4-iPrOapc* (285 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 45 mg (26%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₉H₆₆N₁₀O₇, cal: 907, observado: m/z (908 M+H).

Ejemplo 48

Penta-4-MeApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-4-MeApc* (280 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 590 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 139 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 51 mg (30%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₆₂N₁₀O₆, cal: 863, observado: m/z (864 M+H).

Ejemplo 49

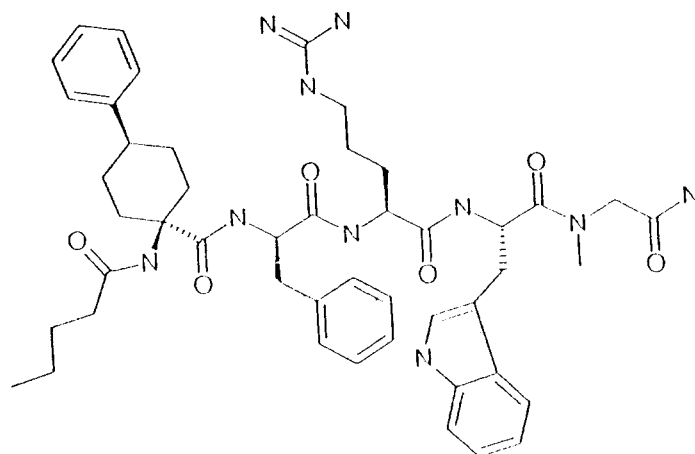
Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Sar-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con *Fmoc-Sar* (187 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Trp* (260 mg, 0,6 mmol), y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Arg* (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-(D)Phe* (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), *Fmoc-Apc* (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 620 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

35

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 175 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 69 mg (40%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₆₂N₁₀O₆ cal: 863, observado: 864 m/z (M+H).

45

Ejemplo 50

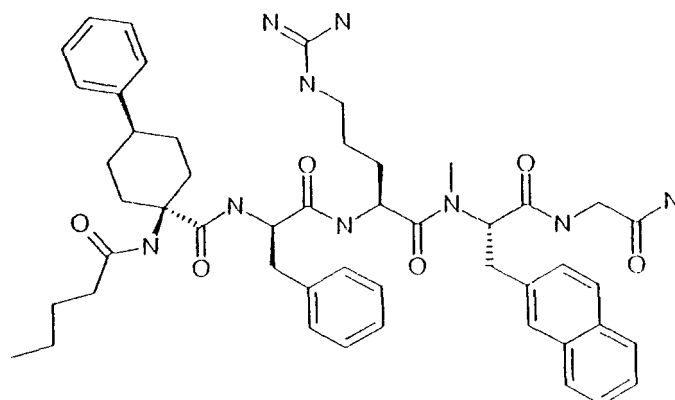
Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metil-(2-Nal-Gly-NH₂)

50

55

60

65



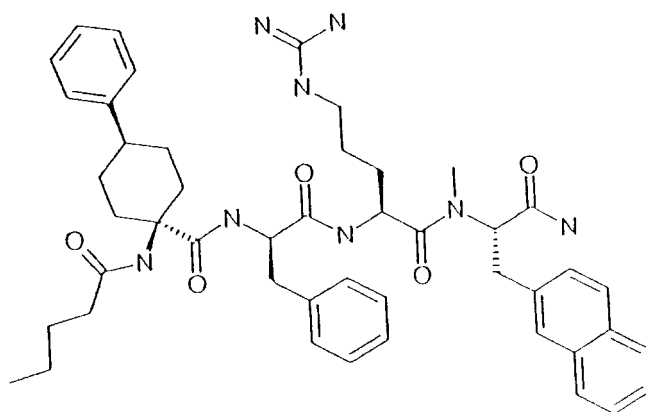
ES 2 304 128 T3

La resina Fmoc-Conector-BHA (700 mg, 0,385 mmol) sintetizada usando el procedimiento del Ejemplo 29, se sometió a síntesis de fase sólida, usando condiciones de acoplamiento DIC/HOBT, y los lavados se efectuaron como se expone en el protocolo 1. Todos los acoplamientos de aminoácidos se efectuaron usando DIC (5 eq.), HOBT (2,5 eq.) como los reactivos de acoplamiento y el Fmoc-aminoácido (2,5 eq.). La resina se sometió a los pasos de lavado 1-6 como se expone en el protocolo 1, después de cada acoplamiento de péptido. Se efectuaron dos ciclos de acoplamiento, cada uno con Fmoc-Gly (286 mg, 0,96 mmol), seguido de Fmoc-(2)-Nal (421 mg, 0,96 mmol). Luego de la separación de Fmoc del residuo 2-Nal, la amina resultante se convirtió en su derivado 2-nitrobenceno sulfonilo, usando cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo (5 eq., 426 mg, 1,93 mmol) y DIPEA (5 eq.) como la base en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (6 x 30 ml) seguido de CH₂Cl₂ (3 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. La sulfonamida obtenida se sometió a metilación, usando trifenilfosfina (5 eq., 505 mg, 1,93 mmol), N,N-dietilazodicarboxilato (5 eq., 303 μ l, 1,93 mmol) y metanol (10 eq., 156 μ l, 3,85 mmol) en THF. Los lavados se efectuaron usando THF (6 x 30 ml), seguido de CH₂Cl₂ (5 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El grupo 2-nitrobenceno sulfonilo se separó luego usando 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno (3 eq., 173 μ l, 1,16 mmol), 2-mercaptoetanol (5 eq., 135 μ l, 1,93 mmol) en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (3 x 30 ml), isopropanol (3- x 30 ml), seguido de éter etílico (3- x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El residuo N-Me(2)Nal resultante se sometió a tres ciclos de acoplamiento, cada ciclo con Fmoc-Arg (Pmc) (638 mg, 0,96 mmol), Fmoc-(D)Phe (373 mg, 0,96 mmol) y Fmoc-Apc (170 mg, 0,96 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 300 μ l de anhídrido valérico, 245 μ l piridina en 15 ml DMF durante 5 h. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 30 ml cada vez de DMF (tres veces), isopropanol, CH₂Cl₂ (tres veces) y éter etílico (tres veces). La resina pentil-péptido resultante se secó bajo vacío, y se trató con 7 ml de ácido trifluoroacético al 60% en CH₂Cl₂, 1% de agua y 615 ml de trietilsilano (10 eq., 3,85 mmol) durante 160 minutos. La resina se separó por filtración, se lavó con ~5-7 ml CH₂Cl₂, y los filtrados se concentraron en una bomba de vacío de velocidad Savant, para dar el producto crudo.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 30 mg (~10%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray: C₄₉H₆₃N₉O₆, cal.: 873, observado: m/z (874 M+H).

Ejemplo 51

Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metil-(2)Nal-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (700 mg, 0,385 mmol) sintetizada usando el procedimiento del Ejemplo 29, se sometió a síntesis de fase sólida, usando condiciones de acoplamiento DIC/HOBT, y los lavados se efectuaron como se expone en el protocolo 1. Todos los acoplamientos de aminoácidos se efectuaron usando DIC (5 eq.), HOBT (2,5 eq.) como los reactivos de acoplamiento y el Fmoc-aminoácido (2,5 eq.). La resina se sometió a los pasos de lavado 1-6 como se expone en el protocolo 1, después de cada acoplamiento de péptido. Se efectuó un ciclo de acoplamiento con Fmoc-(2)Nal (421 mg, 0,96 mmol). Luego de la separación de Fmoc del residuo 2-Nal, la amina resultante se convirtió en su derivado 2-nitrobenceno sulfonilo, usando cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo (5 eq., 426 mg, 1,93 mmol) y DIPEA (5 eq.) como la base en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (6 x 30 ml) seguido de CH₂Cl₂ (3 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. La sulfonamida obtenida se sometió a metilación, usando trifenilfosfina (5 eq., 505 mg, 1,93 mmol), N,N-dietilazodicarboxilato (5 eq., 303 μ l, 1,93 mmol) y metanol (10 eq., 156 μ l, 3,85 mmol) en THF. Los lavados se efectuaron usando THF (6 x 30 ml), seguido de CH₂Cl₂ (5 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El grupo 2-nitrobenceno sulfonilo se separó luego usando 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno (3 eq., 173 μ l, 1,16 mmol), 2-mercaptoetanol (5 eq., 135 μ l, 1,93 mmol) en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (3 x 30 ml), isopropanol (3 x 30 ml), seguido de éter etílico (3 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El residuo N-Me(2)Nal resultante se sometió a tres ciclos de acoplamiento, cada ciclo con Fmoc-Arg (Pmc) (638 mg, 0,96 mmol), Fmoc-(D)Phe (373 mg, 0,96 mmol) y Fmoc-Apc (170 mg, 0,96 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos

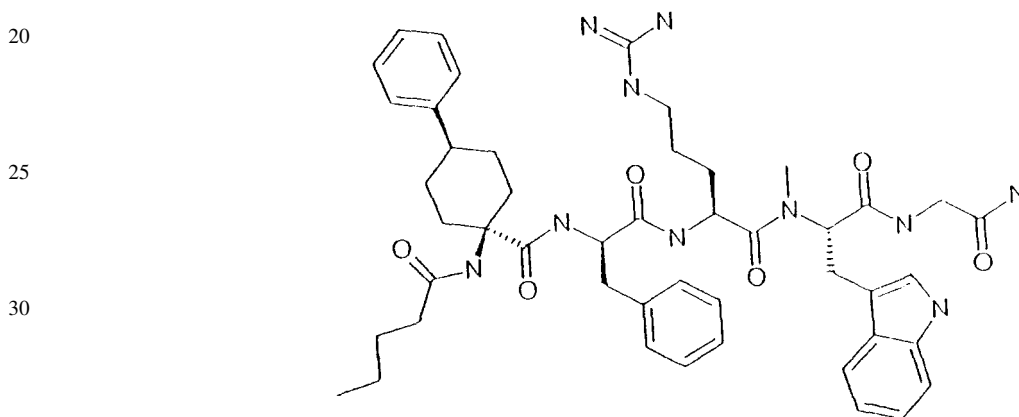
ES 2 304 128 T3

1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con 300 μl de anhídrido valérico, 245 μl piridina en 15 ml DMF durante 5 h. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 30 ml cada vez de DMF (tres veces), isopropanol, CH_2Cl_2 (tres veces) y éter etílico (tres veces). La resina pentil-péptido resultante se secó bajo vacío, y se trató con 7 ml de ácido trifluoroacético al 60% en CH_2Cl_2 , 1% de agua y 615 ml de trietilsilano (10 eq., 3,85 mmol) durante 160 minutos. La resina se separó por filtración, se lavó con ~5-7 ml CH_2Cl_2 , y los filtrados se concentraron en una bomba de vacío de velocidad Savant, para dar el producto crudo.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 43 mg (~14%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray: C₄₇H₆₀N₈O₅, cal.: 817, observado: m/z (818 M+H).

15 Ejemplo 52

Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metil-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (700 mg, 0,385 mmol) sintetizada usando el procedimiento del Ejemplo 29, se sometió a síntesis de fase sólida, usando condiciones de acoplamiento DIC/HOBT, y los lavados se efectuaron como se expone en el protocolo 1. Todos los acoplamientos de aminoácidos se efectuaron usando DIC (5 eq.), HOBT (2,5 eq.) como los reactivos de acoplamiento y el Fmoc-aminoácido (2,5 eq.). La resina se condujo a través de los pasos de lavado 1-6 como se expone en el protocolo 1, después de cada acoplamiento de péptido. Se efectuaron dos ciclos de acoplamiento, cada uno con Fmoc-Gly (286 mg, 0,96 mmol), seguido de Fmoc-Trp (461 mg, 0,98 mmol). Luego de la separación de Fmoc del residuo tipo, la amina resultante se convirtió en su derivado 2-nitrobenceno sulfonilo, usando cloruro de 2-nitrobenzenosulfonilo (5 eq., 426 mg, 1,93 mmol) y DIPEA (5 eq.) como la base en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (6 x 30 ml) seguido de CH_2Cl_2 (3 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. La sulfonamida obtenida se sometió a metilación, usando trifetilfosfina (5 eq., 505 mg, 1,93 mmol), N,N-dietilazodicarboxilato (5 eq., 303 μl , 1,93 mmol) y metanol (10 eq., 156 μl , 3,85 mmol) en THF. Los lavados se efectuaron usando THF (6 x 30 ml), seguido de CH_2Cl_2 (5 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El grupo 2-nitrobenceno sulfonilo se separó luego usando 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno (3 eq., 173 μl , 1,16 mmol), 2-mercaptoetanol (5 eq., 135 μl , 1,93 mmol) en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (3 x 30 ml), isopropanol (3- x 30 ml), seguido de éter etílico (3- x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El residuo N-MeTrp resultante se sometió a tres ciclos de acoplamiento, cada ciclo con Fmoc-Arg (Pmc) (638 mg, 0,96 mmol), Fmoc-(D)Phe (373 mg, 0,96 mmol) y Fmoc-Apc (170 mg, 0,96 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con 300 μl de anhídrido valérico, 245 μl piridina en 15 ml DMF durante 5 h. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 30 ml cada vez de DMF (tres veces), isopropanol, CH_2Cl_2 (tres veces) y éter etílico (tres veces). La resina pentil-péptido resultante se secó bajo vacío, y se trató con 7 ml de ácido trifluoroacético al 60% en CH_2Cl_2 , 1% de agua y 615 ml de trietilsilano (10 eq., 3,85 mmol) durante 160 minutos. La resina se separó por filtración, se lavó con ~5-7 ml CH_2Cl_2 , y los filtrados se concentraron en una bomba de vacío de velocidad Savant, para rendir el producto crudo.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 30 mg (~10%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray: C₄₇H₆₂N₁₀O₆, cal.: 863, observado: m/z (864 M+H).

65

Ejemplo 53

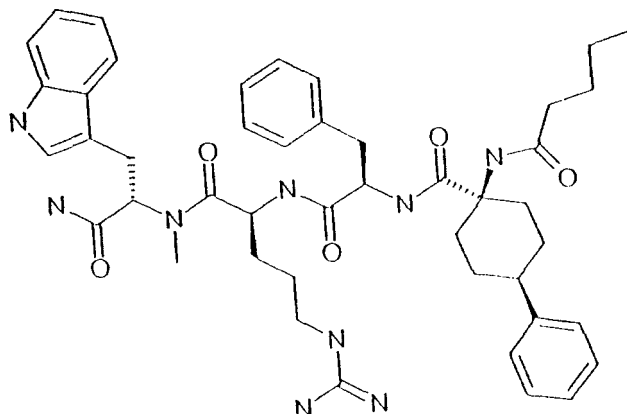
Penta-Apc-(D)Phe-Arg-N-metilTrp-NH₂

5

10

15

20



25 La resina Fmoc-Conector-BHA (700 mg, 0,385 mmol) sintetizada usando el procedimiento del Ejemplo 29, se sometió a síntesis de fase sólida, usando condiciones de acoplamiento DIC/HOBT, y los lavados se efectuaron como se expone en el protocolo 1. Todos los acoplamientos de aminoácidos se efectuaron usando DIC (5 eq.), HOBT (2,5 eq.) como los reactivos de acoplamiento y el Fmoc-aminoácido (2,5 eq.). La resina se condujo a través de los pasos de lavado 1-6 como se expone en el protocolo 1, después de cada acoplamiento de péptido. Se efectuó un ciclo de
 30 acoplamiento con Fmoc-Trp(461 mg, 0,96 mmol). Luego de la separación de Fmoc del residuo Trp, la amina resultante se convirtió en su derivado 2-nitrobeneno sulfonilo, usando cloruro de 2-nitrobenenosulfonilo (5 eq., 426 mg, 1,93 mmol) y DIPEA (5 eq.) como la base en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (6 x 30 ml) seguido de CH₂Cl₂ (3 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. La sulfonamida obtenida se sometió a metilación, usando trifetilfosfina (5 eq., 505 mg, 1,93 mmol), N,N-dietilazodicarboxilato (5 eq., 303 μ l, 1,93 mmol) y metanol (10 eq., 156 μ l, 3,85 mmol) en THF. Los lavados se efectuaron usando THF (6 x 30 ml), seguido de CH₂Cl₂ (5 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El grupo 2-nitrobeneno sulfonilo se separó luego usando 1,8-diazabicyclo [5.4.0]undec-7-eno (3 eq., 173 μ l, 1,16 mmol), 2-mercaptoetanol (5 eq., 135 μ l, 1,93 mmol) en DMF. Los lavados se efectuaron usando DMF (3 x 30 ml), isopropanol (3 x 30 ml), seguido de éter etílico (3 x 30 ml), y la resina se secó bajo vacío. El residuo N-MeTrp resultante se sometió a tres ciclos de acoplamiento, cada ciclo con Fmoc-Arg (Pmc) (638 mg, 0,96 mmol), Fmoc-(D) Phe (373 mg, 0,96 mmol) y Fmoc-Apc (170 mg, 0,96 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 300 μ l de anhídrido valérico, 245 μ l piridina en 15 ml DMF durante 5 h. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 30 ml cada vez de DMF (tres veces), isopropanol, CH₂Cl₂ (tres veces) y éter etílico (tres veces). La resina pentil-péptido resultante se secó bajo vacío, y se trató con 7 ml de ácido trifluoroacético al 60% en CH₂Cl₂, 1% de agua y 615 ml de trietilsilano (10 eq., 3,85 mmol) durante 160 minutos. La resina se separó por filtración, se lavó con ~5-7 ml CH₂Cl₂, y los filtrados se concentraron en una bomba de vacío de velocidad Savant, para rendir el producto crudo.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 43 mg (14%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray: C₄₅H₅₉N₉O₅, cal.: 806, observado: m/z (807 M+H).

55

60

65

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 54

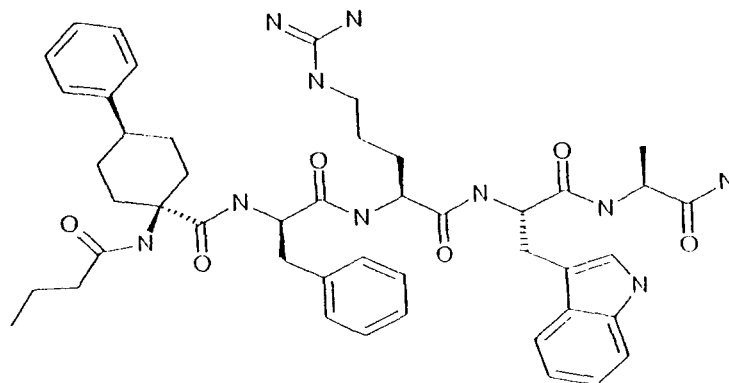
Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Ala-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Ala (187 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe(240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina butil-Pentapéptido.

35

La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 61 mg (36%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₆H₆₀N₁₀O₆, cal.: 849, observado: m/z (850 M+H).

45

Ejemplo 55

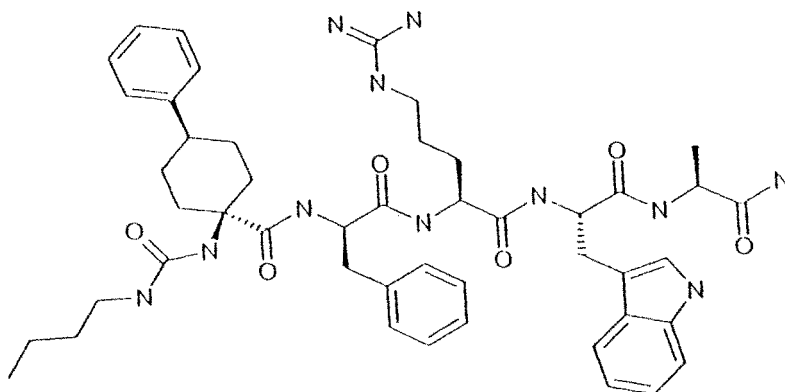
Bu-carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-TRP-Ala-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

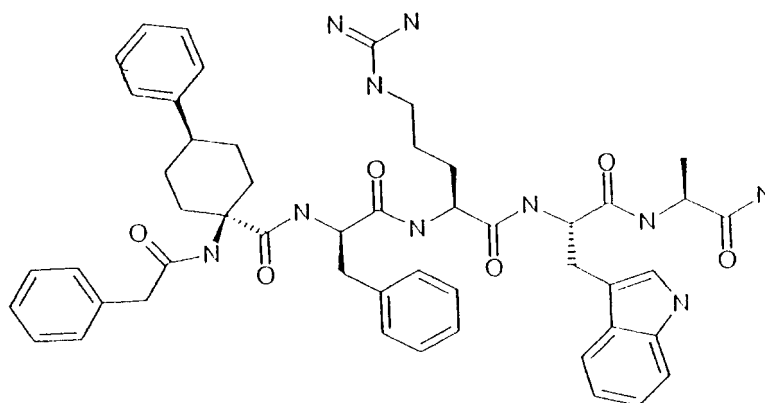
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Ala (187 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe(240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con n-butyl isocianato (5 equiv.) en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Bu-carbamoil-Pentapéptido.

La resina Bu-carbamoil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 143 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 65 mg (37%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₆₃N₁₁O₆, cal.: 878, observado: m/z (879 M+H).

Ejemplo 56

Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Ala-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Ala (187 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con ácido fenilacético (82 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para rendir 600 mg de resina fenilacetil-Pentapéptido.

La resina fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 138 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 53 mg (30%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₀H₆₀N₁₀O₆, cal.: 897, observado: m/z (898 M+H).

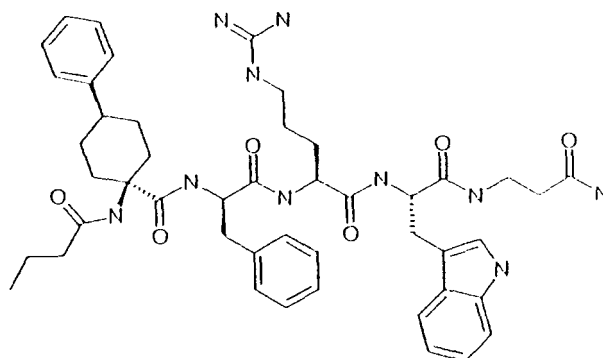
Ejemplo 57

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-β-Ala-NH₂

5

10

15



20

25

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-β-Ala (186 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mal), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe(240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con anhídrido butírico en DIPEA 6%/DMF durante 12 horas. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 550 mg de resina Butil-Pentapéptido.

30

35

La resina Butil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 135 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (32%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₆H₆₀N₁₀O₆, cal.: 848, observado: m/z (850 M+H).

Ejemplo 58

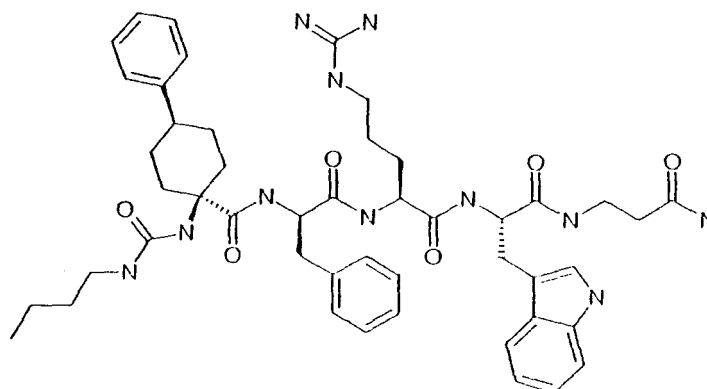
45

Bu-Carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-β-Ala-NH₂

50

55

60



65

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-β-Ala (186 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol)

ES 2 304 128 T3

5 y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con n-butil isocianato (5 equiv.) en DIPEA 6%/DMF durante 12 horas. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 550 mg de resina Butil-carbamoil-Pentapéptido.

10 La resina Butil-carbamoil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 135 mg de un sólido blanquecino.

15 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (31%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₄₇H₆₃N₁₁O₆, cal.: 878, observado: m/z (879 M+H).

20 Ejemplo 59

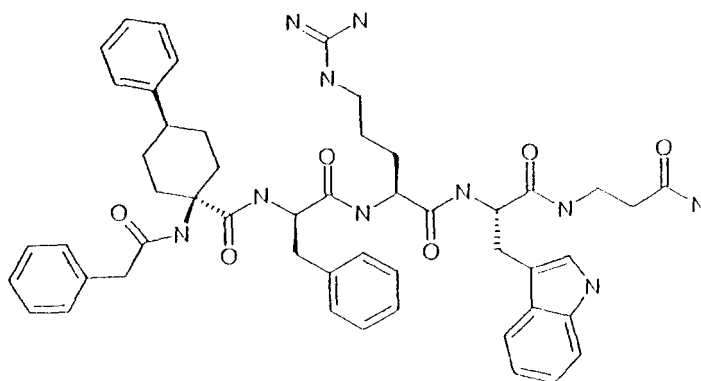
Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-β-Ala-NH₂

25

30

35

40



45 La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-β-Ala (186 mg, 0,6 mal) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con ácido fenilacético (82 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 550 mg de resina fenilacetil-Pentapéptido.

55 La resina fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 129 mg de un sólido blanquecino.

60 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 49 mg (27%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₀H₆₀N₁₀O₆, cal.: 897, observado: m/z (898 M+H).

65

Ejemplo 60

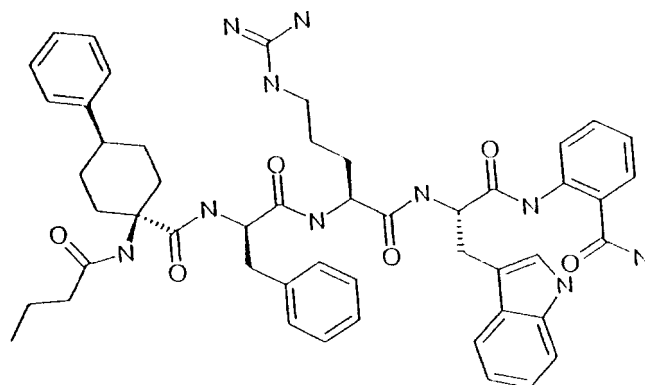
Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Butil-Pentapéptido.

35

La resina Butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 47 mg (26%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₀H₆₀N₁₀O₆, cal.: 897, observado: m/z (898 M+H).

45

Ejemplo 61

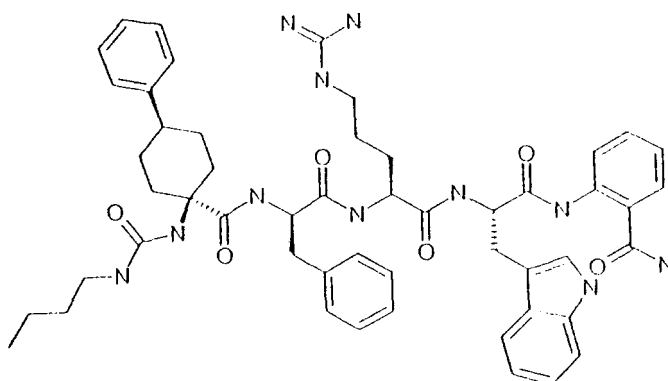
Bu-carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

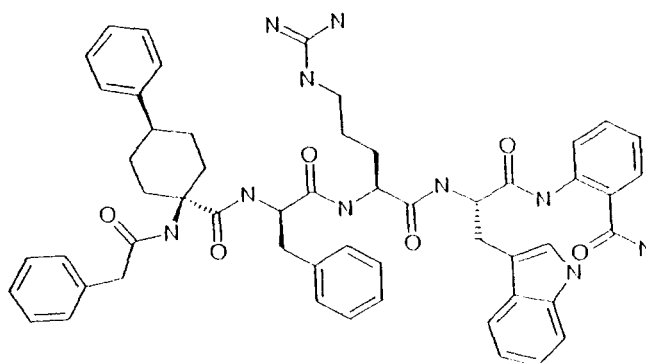
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con n-butyl isocianato (5 equiv.) en DIPEA 6%/ CH_2Cl_2 durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina butil-carbamoil-Pentapéptido.

La resina Butil-carbamoil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 152 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (30%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₁H₆₃N₁₁O₆, cal.: 926, observado: m/z (927 M+H).

Ejemplo 62

Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con ácido fenilacético (82 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 615 mg de resina fenilacetil-Pentapéptido.

La resina fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 142 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/H₂O, buffer B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 53 mg (29%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₄H₆₀N₁₀O₆, cal.: 945, observado: m/z (955 M+H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 63

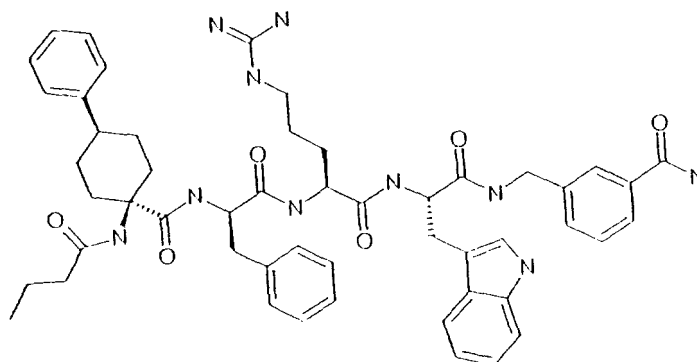
Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Amb-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-3-Amb (230 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 590 mg de resina butil-Pentapéptido.

35

La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 50 mg (27%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₁H₆₂N₁₀O₆, cal.: 911, observado: m/z (912 M+H).

45

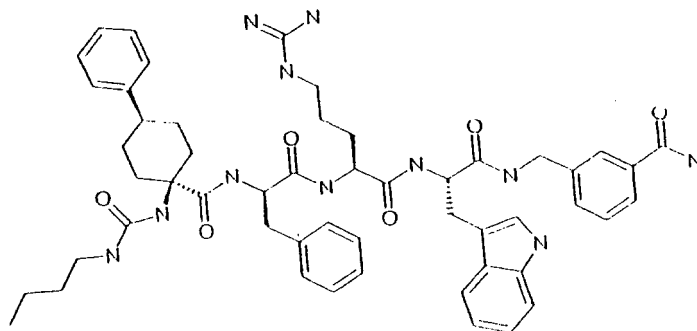
Ejemplo 64

Bu-carbamoil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-3-Amb-NH₂

50

55

60



65

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con

ES 2 304 128 T3

5 Fmoc-3-Amb (230 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con n-butil isocianato (5 equiv.) en DIPEA 6%/ CH_2Cl_2 durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina butil-carbamoil-Pentapéptido.

10 La resina butil-carbamoil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 143 mg de un sólido blanquecino.

15 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% buffer A: TFA 0,1%/ H_2O , buffer B: TFA 0,1%/ CH_3CN en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 53 mg (28%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray $\text{C}_{52}\text{H}_{65}\text{N}_{11}\text{O}_6$, cal.: 940, observado: m/z (941 M+H).

20

Ejemplo 65

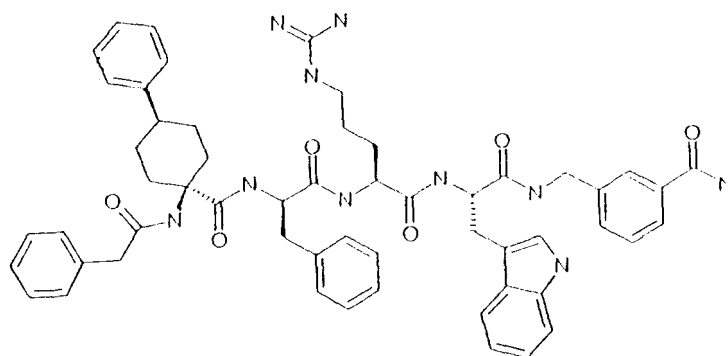
25 *Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-3-Amb-NH₂*

25

30

35

40



45 La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-3-Amb (230 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH_2Cl_2 (tres veces) y se trató con ácido fenilacético (82 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH_2Cl_2 (dos veces), isopropanol y CH_2Cl_2 (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina fenilacetil-Pentapéptido.

55 La resina fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μl etanoditiol, 40 μl dimetilsulfuro, 120 μl anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et_2O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 135 mg de un sólido blanquecino.

60 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (buffer A: TFA 0,1%/ H_2O , buffer B: TFA 0,1%/ CH_3CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 49 mg (26%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray $\text{C}_{55}\text{H}_{62}\text{N}_{10}\text{O}_6$, cal.: 959, observado: m/z (960 M+H).

65

ES 2 304 128 T3

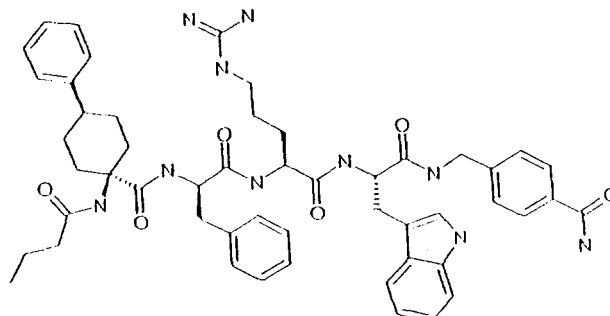
Ejemplo 66

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-4-Amb-NH₂

5

10

15



20

25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-4-Amb (230 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 615 mg de resina butil-Pentapéptido.

35

La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 153 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (30%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₁H₆₂N₁₀O₆, cal.: 911, observado: m/z (912 M+H).

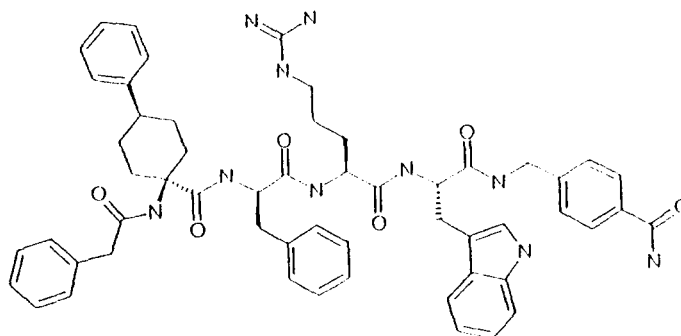
Ejemplo 67

Fenilacetil-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-4-Amb-NH₂

50

55

60



65

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU de DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con

ES 2 304 128 T3

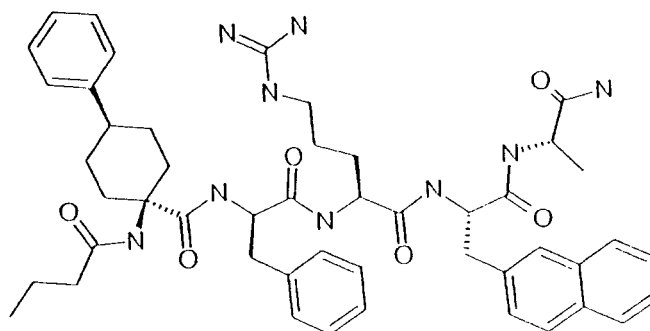
Fmoc-4-Amb (230 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con ácido fenilacético (82 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol) en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 585 mg de resina fenilacetil-Pentapéptido.

La resina fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml de ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 142 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 47 mg (26%) de un polvo amorfo blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR-Electrospray C₅₅H₆₂N₁₀O₆, cal.: 959, observado: m/z (960 M+H).

Ejemplo 68

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Ala-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DOPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Ala (187 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Aeg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y TBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y TBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. la resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Butil-Pentapéptido.

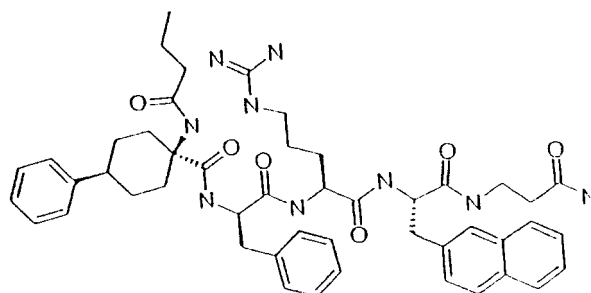
La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. la resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron con éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 149 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y eluido con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para rendir 57 mg (33%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- LR-Electrospray C₄₈H₆₁N₉O₆cal: 860, observado: m/z (861 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 69

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-berta-Ala-NH₂



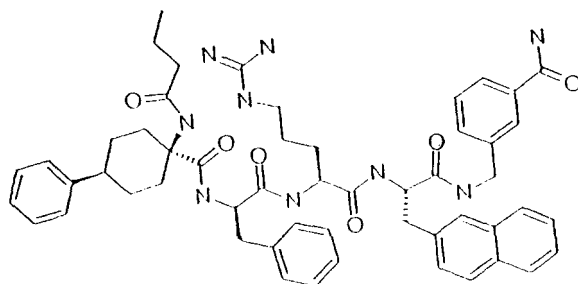
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uni con Fmoc-berta-Ala (187 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,06 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y YBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 605 mg de resina Butil-Pentapéptido.

La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron con éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de ET₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 142 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5x20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 54 mg (32%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₈H₆₁N₉O₆; cal: 860, observado: m/z (861 M + H).

Ejemplo 70

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-3-Amb-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-3-Amb (230 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío para dar 550 mg de resina Butil-Pentapéptido.

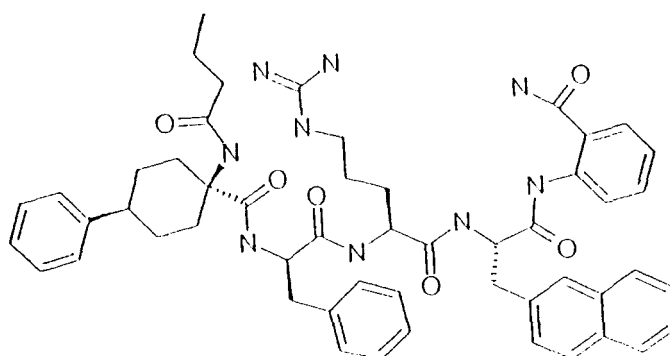
ES 2 304 128 T3

La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugo nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 125 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 44 mg (27%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₅₃H₆₃N₉O₆ cal: 922, observado: m/z (923 M + H).

Ejemplo 71

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-2-Aba-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 510 mg de resina Butil-Pentapéptido.

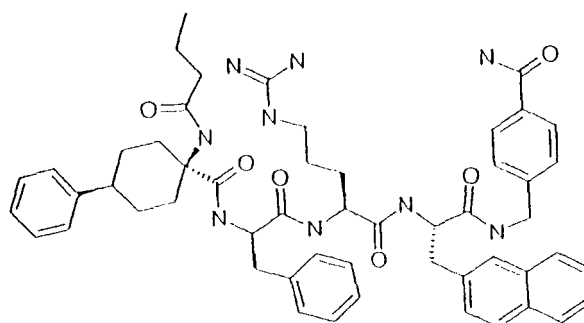
La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 114 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 36 mg (20%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₅₂H₆₁N₉O₆ cal: 908, observado: m/z (909 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 72

Bu-Apc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-4-Amb-NH₂



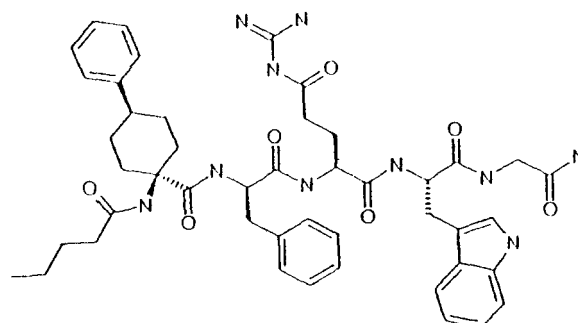
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-4-Amb (230 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc) (400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Butil Pentapéptido.

La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 139 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 56 mg (31%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electropray C₅₃H₆₃N₉O₆ cal: 922, observado: m/z (923 M + H).

Ejemplo 73

Penta-Apc-(D)Phe-acilguanidina-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Glu(alilo)(250 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en

ES 2 304 128 T3

DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar resina Pentil-Pentapéptido.

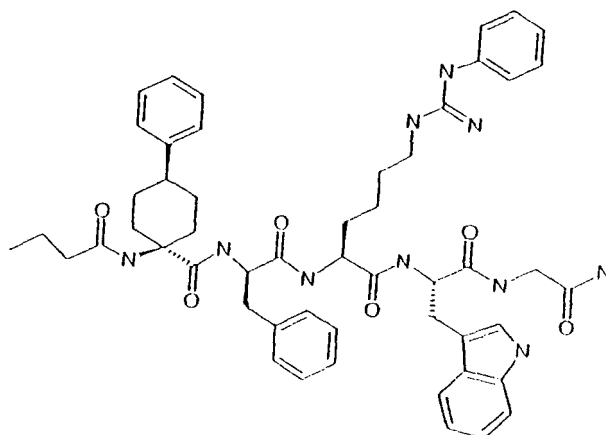
El grupo protector de alilo se separó usando PdCl₂/Trifenilfosfina/hidruro de tributilestano bajo Argón en DMF. La guanidilación se obtuvo usando Boc-Guanidina. HCl (100 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol).

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 30 mg (15%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₅₈N₁₀O₇ cal: 977, observado: m/z (978 M + H).

Ejemplo 74

Bu-Apc-(D)Phe-FenilhomArg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Fenil homoArg (295 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 570 mg resina Butil-Pentapéptido.

La resina Butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 54 mg (30%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₅₂H₆₄N₁₀O₆ cal: 925, observado: m/z (926 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 75

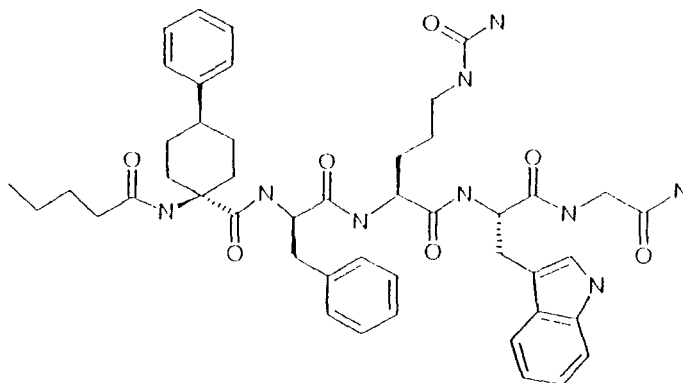
Penta-Apc-(D)Phe-Cit-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Cit(240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Apc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 590 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

35

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 152 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 65 mg (38%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₅₆N₉O₇ cal: 850, observado: m/z (851 M + H).

45

Ejemplo 76

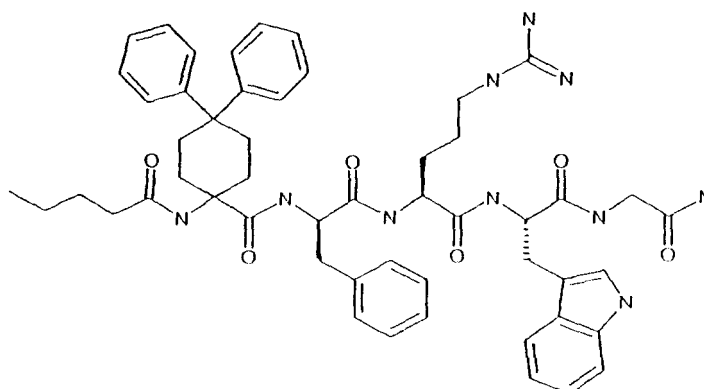
Penta-Adpc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

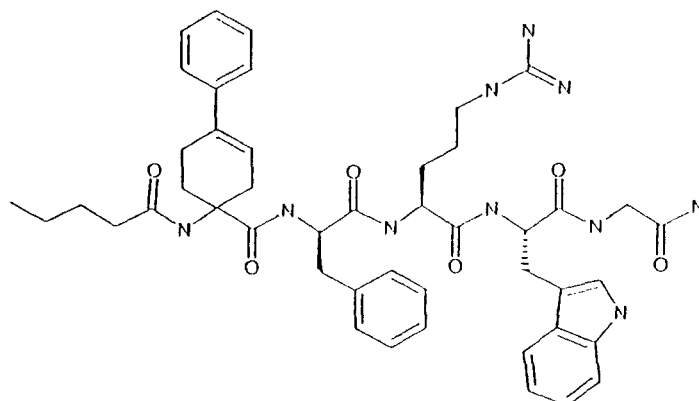
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg(Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Adpc (320 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 142 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 47 mg (26%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₅₂H₆₄N₁₀O₆ cal: 925, observado: m/z (926 M + H).

Ejemplo 77

Penta-Ape-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂(pico 1)



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg(Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Ape (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El primer pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 25 mg (15%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₅₈N₁₀O₆ cal: 847, observado: m/z (948 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 78

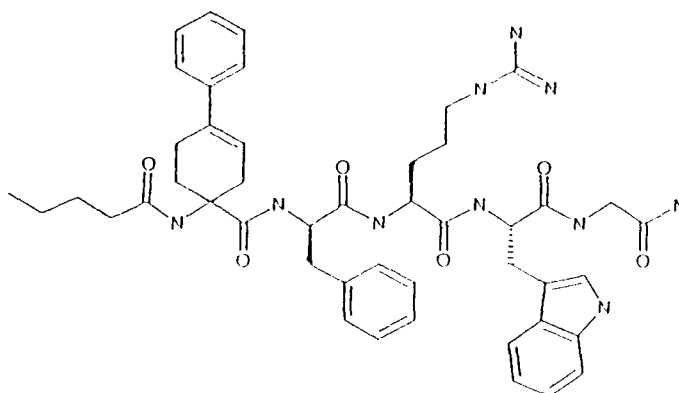
Penta-Ape-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ (pico 2)

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Ape (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

35

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El segundo pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 22 mg (14%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₅₈N₁₀O₆ cal: 847, observado: m/z (948 M + H).

45

Ejemplo 79

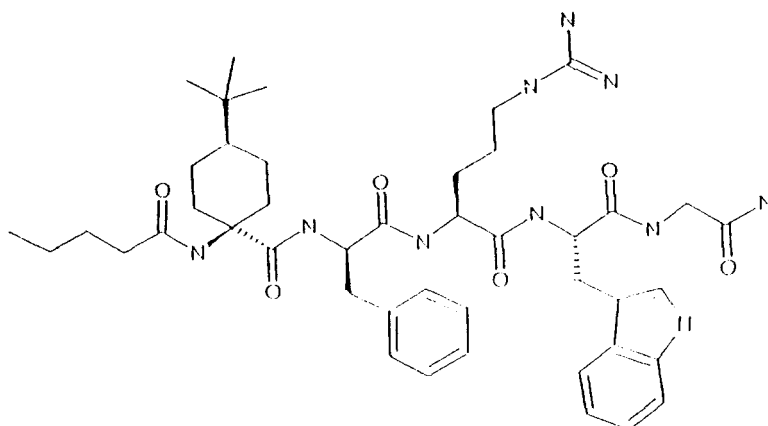
Penta-Abc(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

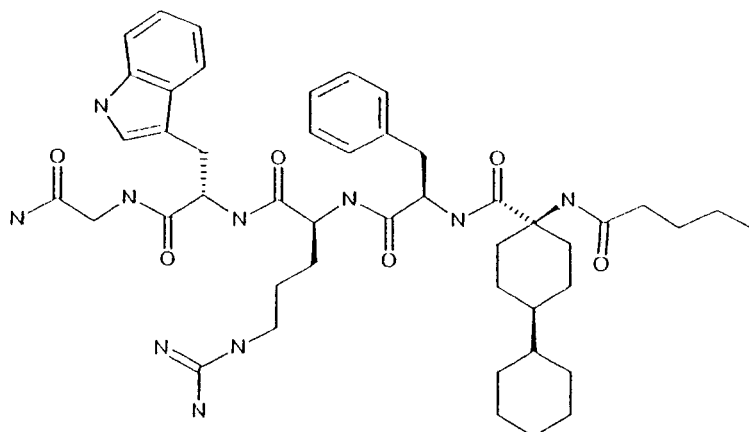
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Ahc (270 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 155 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 61 mg (36%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₄H₆₄N₁₀O₆ cal: 829, observado: m/z (830 M + H).

Ejemplo 80

Pencil-Ahc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Ahc (278 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 65 mg (38%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₆N₁₀O₆ cal: 855, observado: m/z (856 M + H).

Ejemplo 81

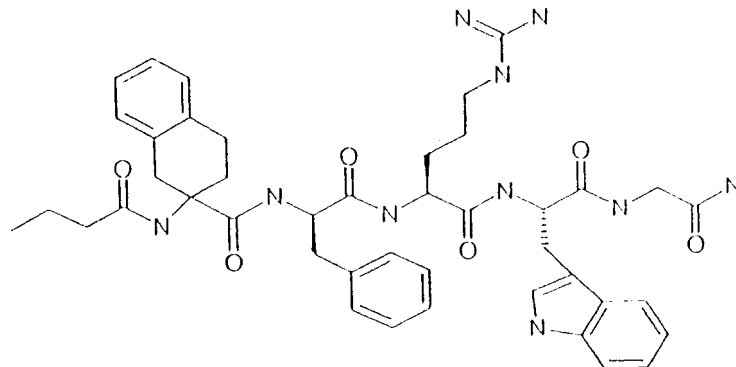
Preparación de Bu-Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)Atc (252 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 550 mg de resina Bu-Pentapéptido.

35

La resina Bu-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 110 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El segundo pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 42 mg (26%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electropray C₄₃H₅₄N₁₀O₆ cal: 807, observado: m/z (808 M + H).

45

Ejemplo 82

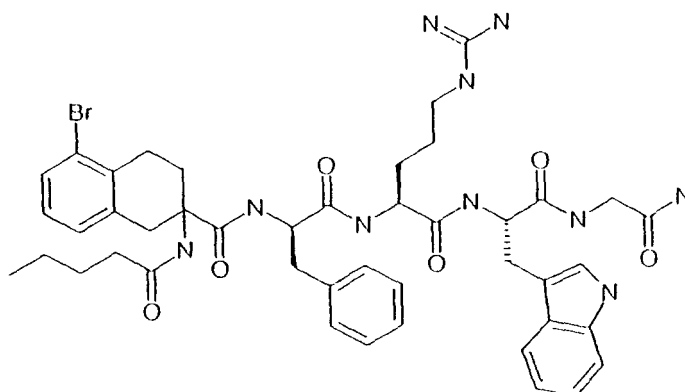
Penta-5-Br(D,L) Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

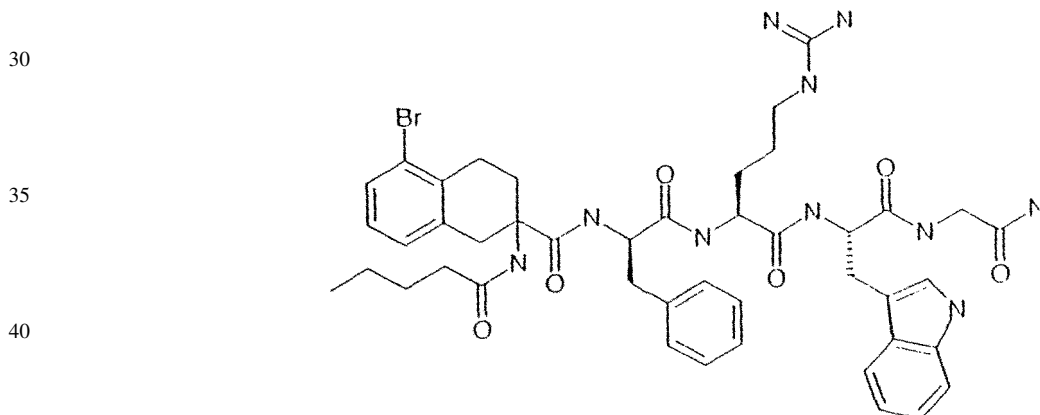
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-Br-(D,L)Atc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Pencil Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 135 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 45 mg (25%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electro spray C₄₄H₅₅N₁₀O₆Br, cal: 900, observado: m/z (901 M + H).

Ejemplo 83

Penta-5-Br-Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ (pico 1)



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 590 mg de resina Pencil Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 130 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El primer pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 40 mg (22%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electro spray C₄₄H₅₅N₁₀O₆Br, cal: 900, observado: m/z (901 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 84

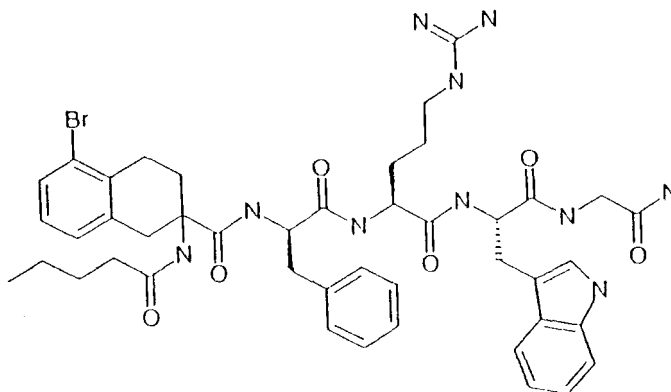
Penta-5-Br-Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ (pico 2)

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)-5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pental-Pentapéptido.

35

La resina Pental-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El segundo pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (30%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₄H₅₅N₁₀O₆Br, cal: 900, observado: m/z (901 M + H).

45

Ejemplo 85

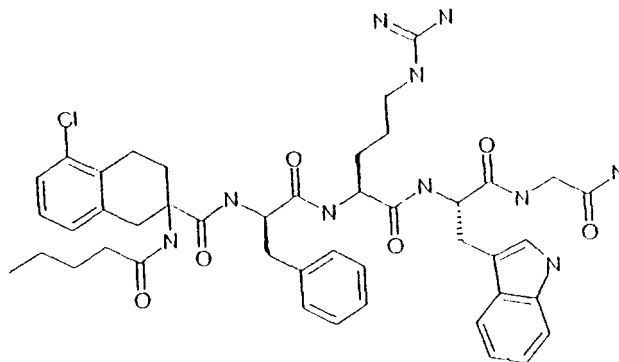
Penta-5-Cl-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

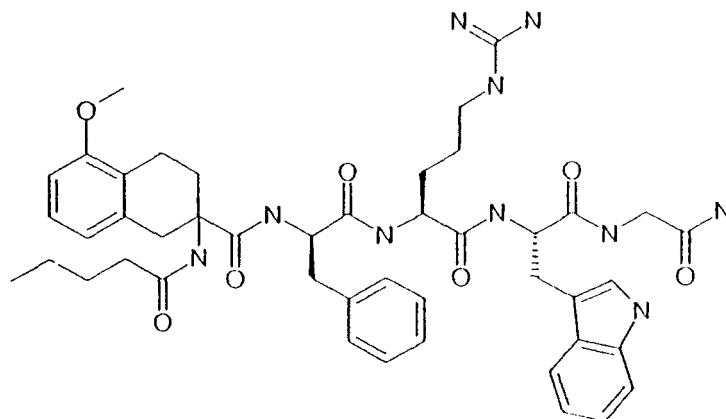
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-CIAtc (290 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 150 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 48 mg (28%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₄H₅₅N₁₀O₆ cal: 855, observado: m/z (856 M + H).

Ejemplo 86

Penta-5-Me-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-MeO(D,L)Atc (300 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 155 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 46 mg (27%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₅H₅₈N₁₀O₇ cal: 851, observado: m/z (852 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 87

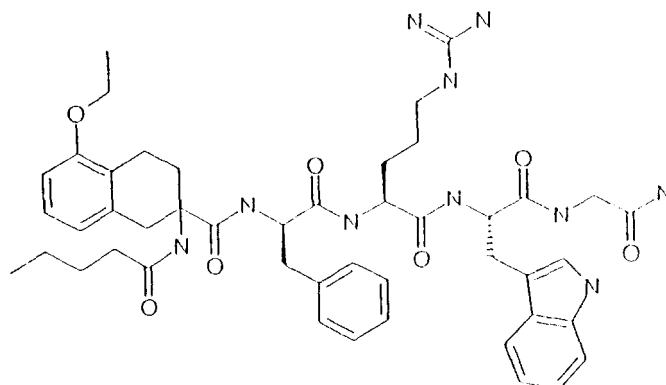
Penta-5-Et-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-EtO(D,L)Atc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 594 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

35

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico muy frío. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 41 mg (24%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₀N₁₀O₇ cal: 865, observado: m/z (866 M + H).

45

Ejemplo 88

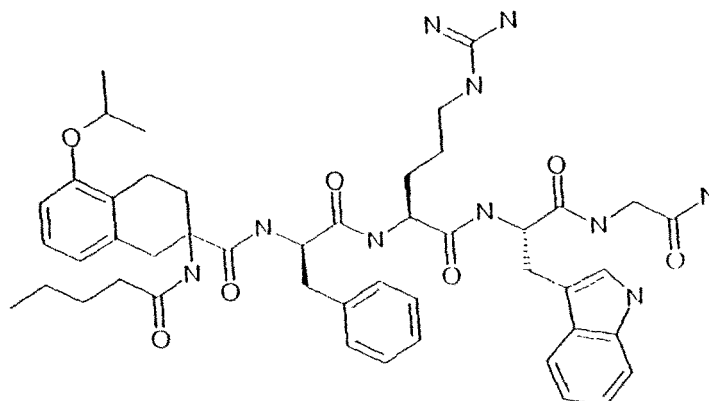
Penta-5-iPr-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

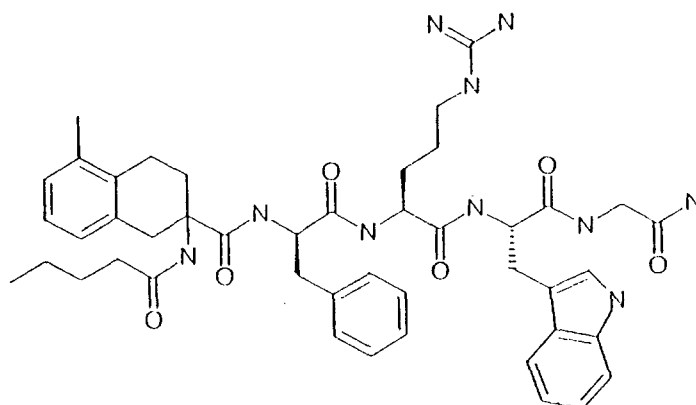
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-iPrO(D,L)Atc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 142 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 43 mg (25%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₇H₆₂N₁₀O₇ cal: 879, observado: m/z (880 M + H).

Ejemplo 89

Penta-5-Me-(D,L)Atc(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-Me(D,L)Atc (290 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriados. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 143 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 40 mg (24%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₅H₅₈N₁₀O₆ cal: 835, observado: m/z (836 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 90

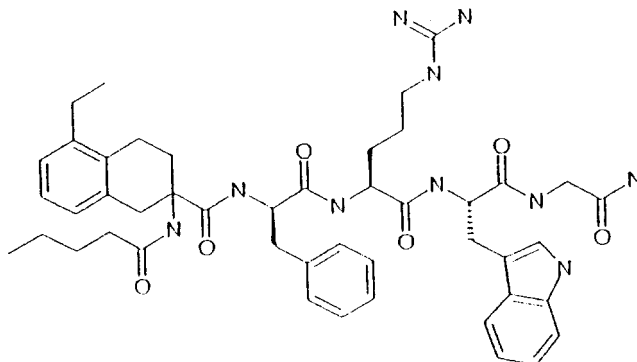
Penta-5-Et-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-Et(D,L)Atc (285 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

35

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 154 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 53 mg (31%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electropray C₄₆H₆₀N₁₀O₆ cal: 849, observado: m/z (850 M + H).

45

Ejemplo 91

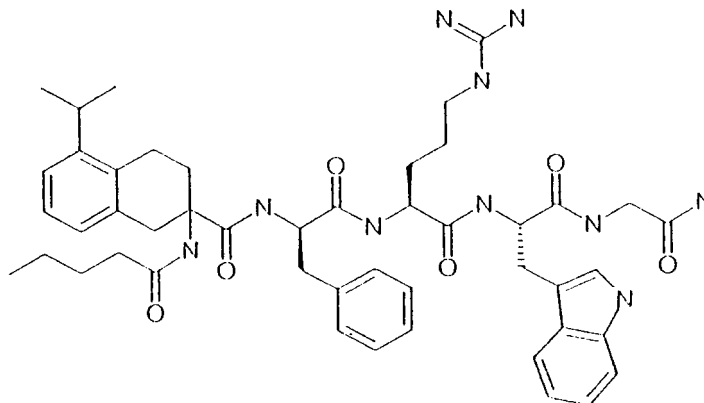
Penta-5-iPr-(D,L)Atc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

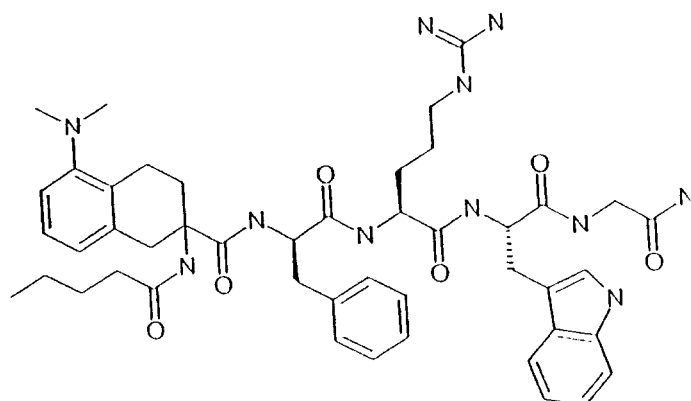
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-iPr(D,L)Atc (300 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 149 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 47 mg (27%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₇H₆₂N₁₀O₆ cal: 863, observado: m/z (864 M + H).

Ejemplo 92

Penta-5-DmaAtc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ (pico 1)



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-Dma(D,L)Atc (300 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 149 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El primer pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 22 mg (13%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₁N₁₁O₆ cal: 864, observado: m/z (865 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 93

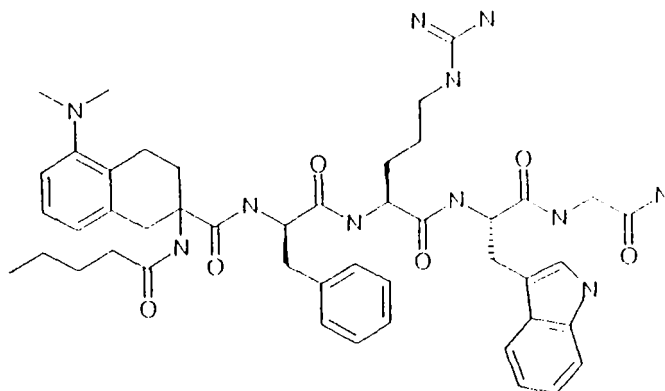
Penta-5-DmaAtc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂ (pico 2)

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-5-Dma(D,L)Atc (300 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

35

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 149 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El segundo pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 27 mg (16%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₁N₁₁O₆ cal: 864, observado: m/z (865 M + H).

45

Ejemplo 94

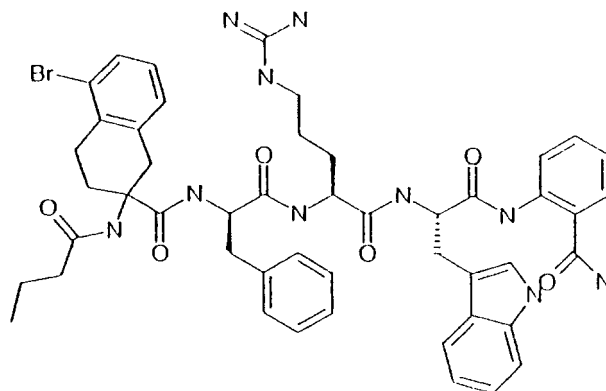
Bu-(D,L)5-BrAtc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

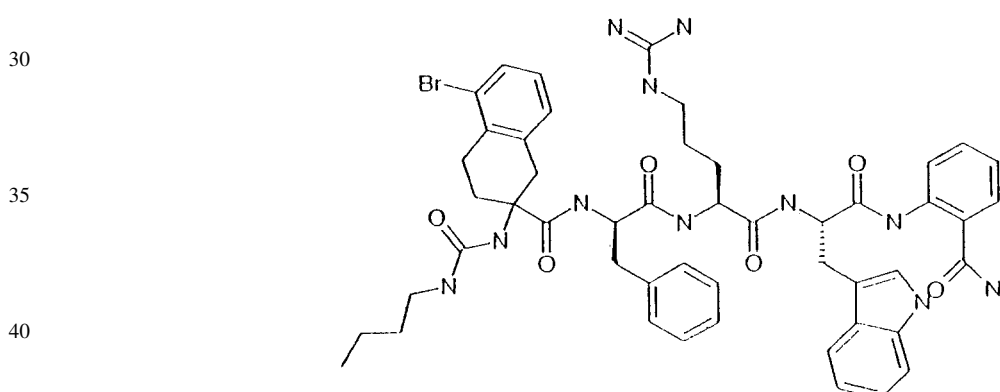
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina butil-Pentapéptido.

La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 141 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 35 mg (19%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₈H₅₅N₁₀O₆Br, cal: 948, observado: m/z (949 M + H).

Ejemplo 95

Bu-carbamoil-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)-5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con n-butil isocianato (5 eq.) en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 12 horas. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina butil carbamoil-Pentapéptido.

La resina butil carbamoil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 153 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 41 mg (21%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₉H₅₈N₁₁O₆Br, cal: 977, observado: m/z (978 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 96

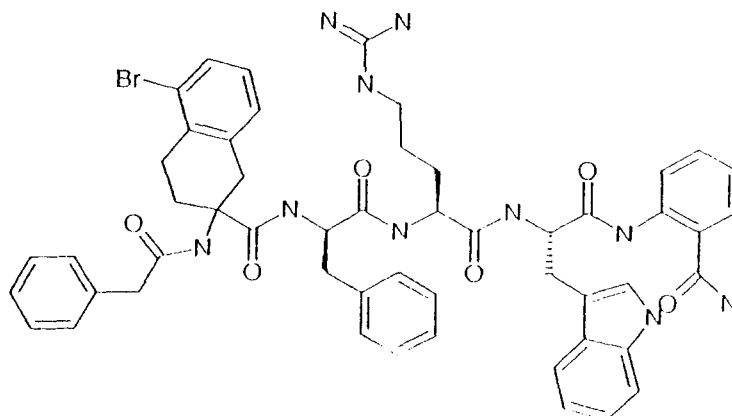
Fenilacetil-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-Trp-2-Aba-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)-5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con ácido fenilacético, HBTU en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Fenilacetil Pentapéptido.

35

La resina fenilacetil Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 148 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 38 mg (19%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₅₂H₅₅N₁₀O₆Br, cal: 996, observado: m/z (997 M + H).

45

Ejemplo 97

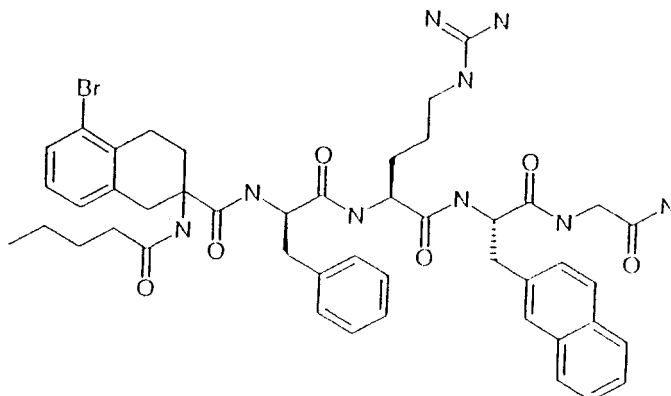
Penta-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

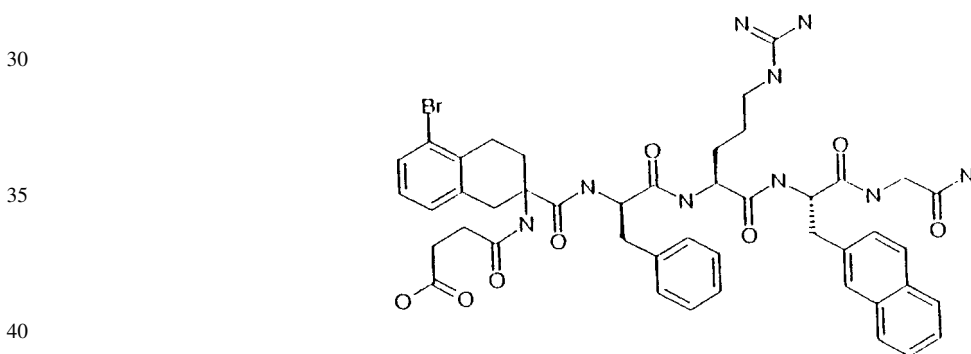
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)-5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 162 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 60 mg (33%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₅₆N₉O₆Br, cal: 911, observado: m/z (912 M + H).

Ejemplo 98

3-carboxilpropanoil-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)-5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con ácido succínico, HBTU en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina 3-carboxilpropanoil- Pentapéptido.

La resina 3-carboxilpropanoil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 158 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (30%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₅H₅₂N₉O₈Br, cal: 927, observado: m/z (928 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 99

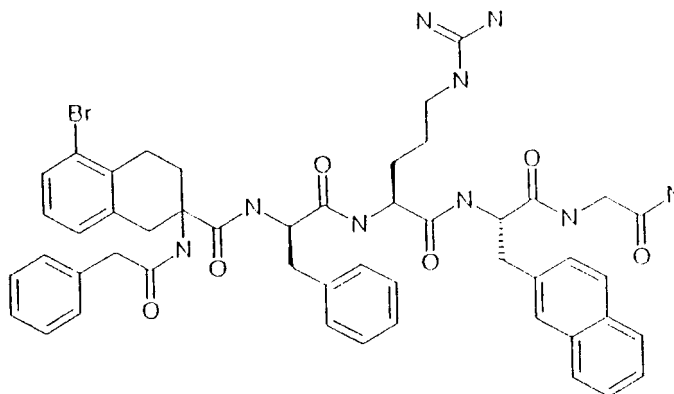
Fenilacetil-(D,L)-5-BrAtc(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)-5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con ácido fenil acético, HBTU en DMF. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina fenilacetil-Pentapéptido.

35

La resina fenilacetil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 161 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 58 mg (30%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electro spray C₄₉H₅₄N₉O₆Br, cal: 945, observado: m/z (946 M + H).

45

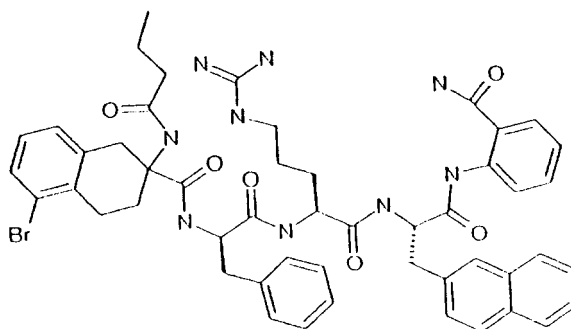
Ejemplo 100

Bu-(D,L)-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-2-Aba-NH₂

50

55

60



65

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con

ES 2 304 128 T3

5 Fmoc-2-Aba (215 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)-Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D,L)-5-BrAtc (310 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se transportó a los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml anhídrido butírico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 590 de resina butil-Pentapéptido.

10 La resina butil-Pentapéptido se trató con 40 µl, etanoditiol, 40 µl dimetilsulfuro, 120 µl anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

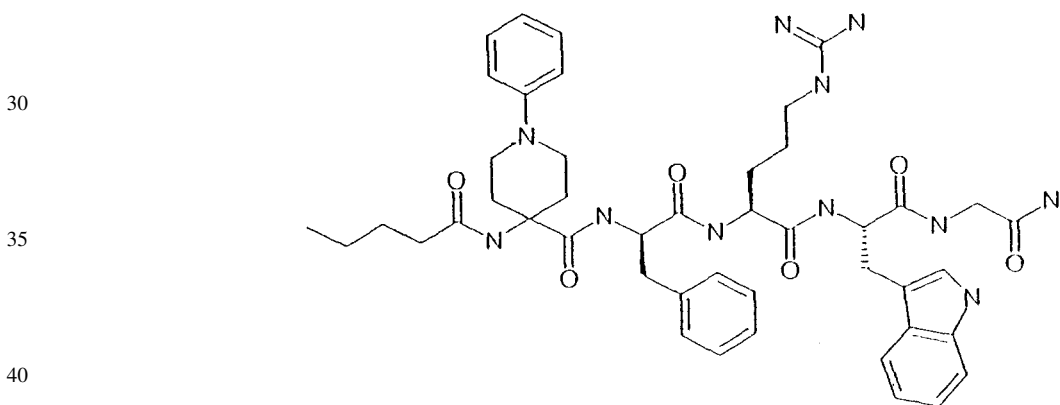
15 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 30 mg (16%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₅₀H₅₆N₉O₆Br, cal: 959, observado: m/z (960 M + H).

20

Ejemplo 101

Penta-Appc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

25



45 La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Appc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con un 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 620 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

55 La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 µl, etanoditiol, 40 µl dimetilsulfuro, 120 µl anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 153 mg de un sólido blanquecino.

60

65 Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 65 mg (38%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₅H₅₉N₁₁O₆, cal: 850, observado: m/z (851 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 102

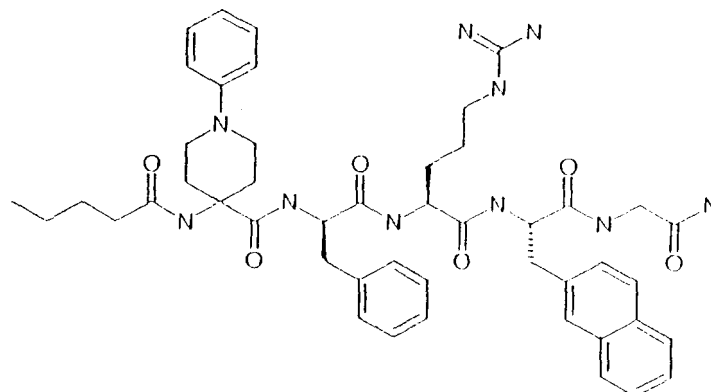
Penta-Appc-(D)Phe-Arg-(2)Nal-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(2)Nal (265 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Appc (275 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂, durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

35

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (32%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₇H₆₀N₁₀O₆ cal: 861, observado: m/z (862 M + H).

45

Ejemplo 103

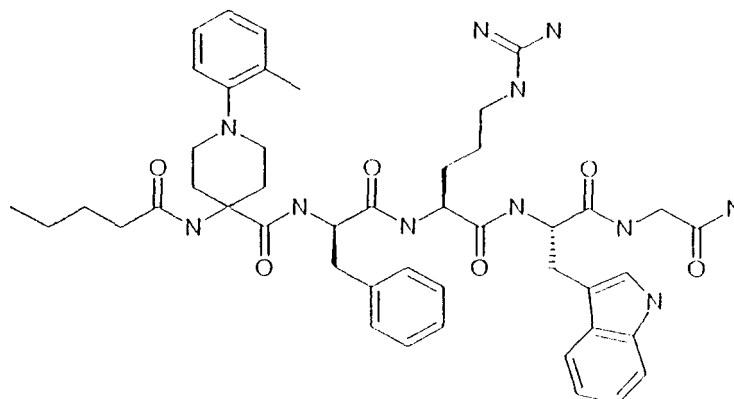
Penta-2-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

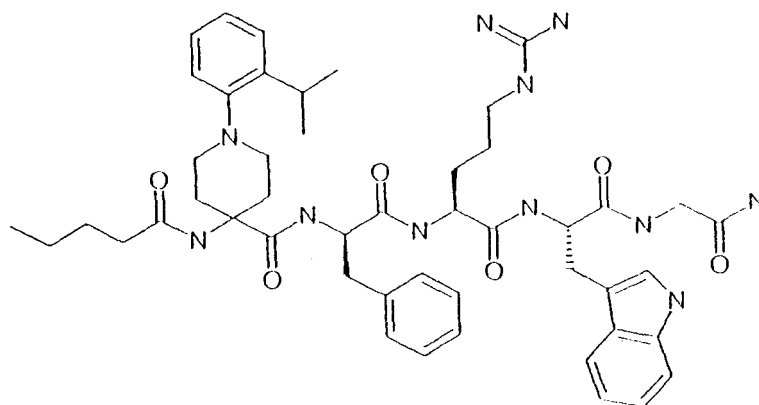
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-2-MeAppc (285 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂, durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 145 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 59 mg (35%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₁N₁₁O₆ cal: 864, observado: m/z (865 M + H).

Ejemplo 104

Penta-2-iPrAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-2-iPrAppc (295 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 147 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 49 mg (27%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₈H₆₅N₁₁O₆, cal: 892, observado: m/z (893 M + H).

Ejemplo 105

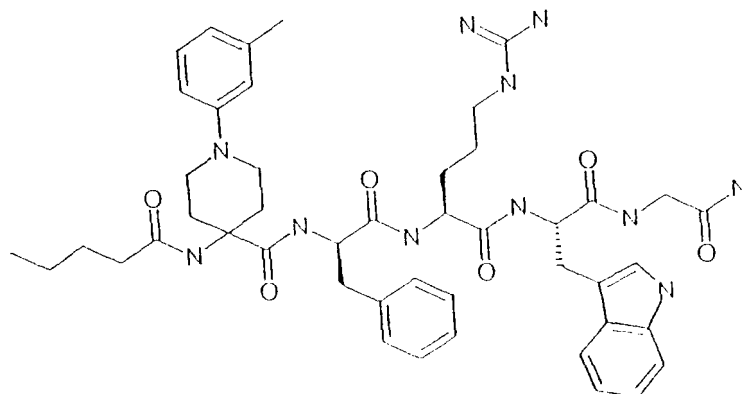
Penta-3-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-3-MeAppc (285 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 595 mg de resina Pental-Pentapéptido.

35

La resina Pental-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 55 mg (32%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₁N₁₁O₆, cal: 864, observado: m/z (865 M + H).

45

Ejemplo 106

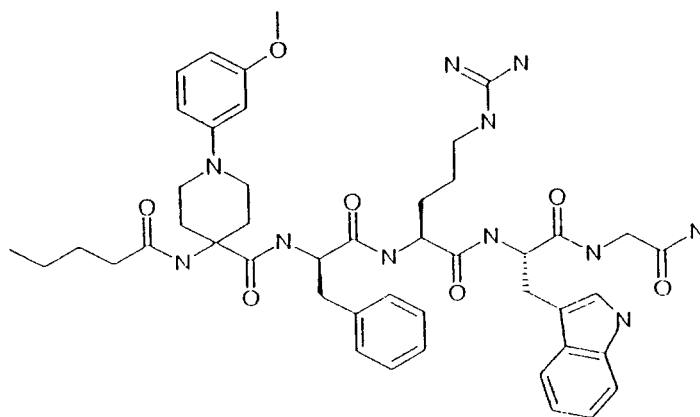
Penta-3-MeOAppc-(D)Phe-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

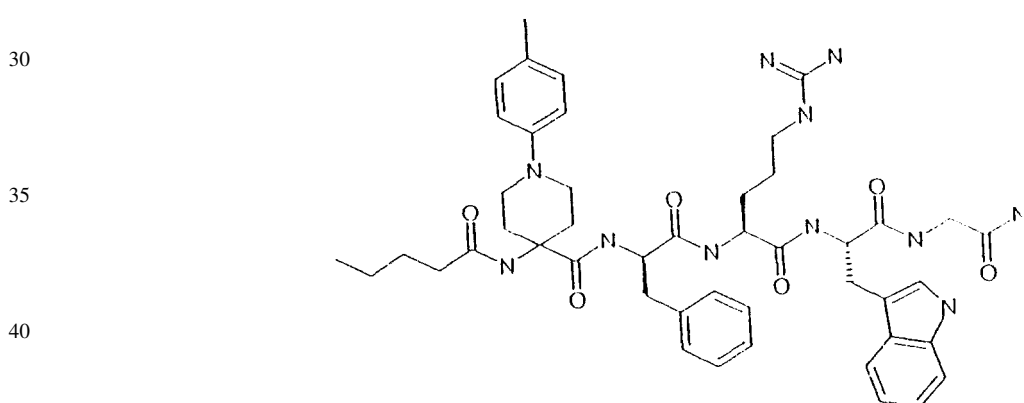
La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-3-MeOAppc (290 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 154 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 50 mg (29%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₁N₁₁O₇, cal: 880, observado: m/z (881 M + H).

Ejemplo 107

Penta-4-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂



La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-4-MeAppc (285 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 600 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 150 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 57 mg (33%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₄₆H₆₁N₁₁O₆, cal: 864, observado: m/z (865 M + H).

ES 2 304 128 T3

Ejemplo 108

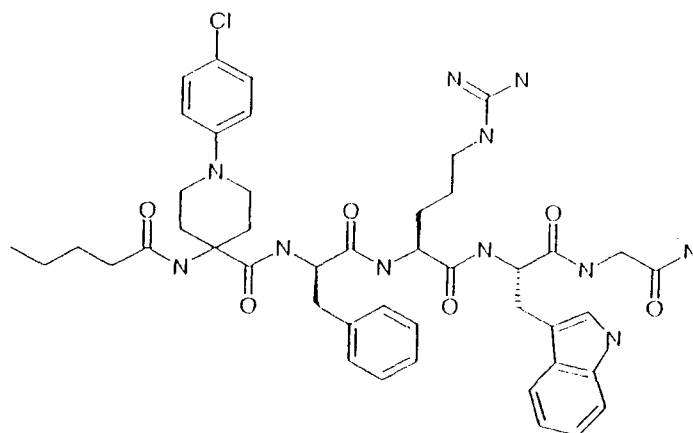
Penta-4-ClAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

5

10

15

20



25

30

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamiento se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-4-ClAppc (290 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 580 mg de resina Pencil-Pentapéptido.

35

La resina Pencil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 140 mg de un sólido blanquecino.

40

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 49 mg (28%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electropray C₄₅H₅₈N₁₁O₆,Cl,cal: 884, observado: m/z (885 M + H).

45

Ejemplo 109

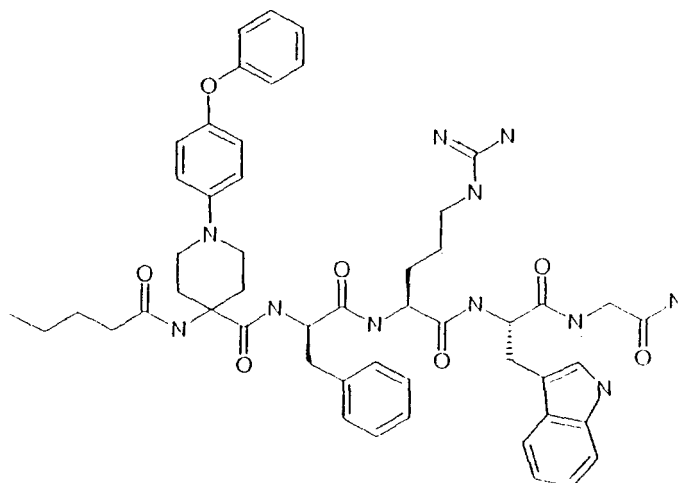
Penta-4-PhOAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂

50

55

60

65



ES 2 304 128 T3

La resina Fmoc-Conector-BHA (360 mg, 0,2 mmol) del Ejemplo 29 se sometió a síntesis de fase sólida, usando el protocolo 1 descrito anteriormente. Todos los acoplamientos se efectuaron usando HBTU en DMF como el agente de acoplamiento, y DIPEA (3 equiv.) como base. Se efectuaron cinco ciclos de acoplamiento, de un ciclo cada uno con Fmoc-Gly (180 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Trp (260 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-Arg (Pmc)(400 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-(D)Phe (240 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol), Fmoc-4-PhOAppc (325 mg, 0,6 mmol) y HBTU (226 mg, 0,6 mmol). La resina peptídica se condujo a través de los pasos 1-5 del protocolo 1, se lavó con CH₂Cl₂ (tres veces) y se trató con 1 ml de anhídrido valérico en DIPEA 6%/CH₂Cl₂ durante 30 minutos. La resina se filtró y se lavó sucesivamente con 20 ml cada vez de CH₂Cl₂ (dos veces), isopropanol y CH₂Cl₂ (tres veces). La resina se secó bajo vacío, para dar 610 mg de resina Pentil-Pentapéptido.

La resina Pentil-Pentapéptido se trató con 40 μ l, etanoditiol, 40 μ l dimetilsulfuro, 120 μ l anisol, y 4 ml ácido trifluoroacético a temperatura ambiente, durante 180 min. La resina se separó por filtración, se lavó con ~2 ml TFA y los filtrados se precipitaron en éter etílico enfriado. Los precipitados se centrifugaron y se decantó la capa de éter. El residuo se lavó con dos o tres volúmenes de Et₂O y se centrifugó nuevamente, y el producto crudo se secó bajo vacío, para dar 143 mg de un sólido blanquecino.

Este material crudo se purificó por HPLC preparativa, en una columna Vydac C18 (2,5 x 20 cm) y se eluyó con un gradiente lineal de B 10-60% (tampón A: TFA 0,1%/H₂O, tampón B: TFA 0,1%/CH₃CN) en 60 min., índice de flujo 8 ml/min, detección 280 nm. El pico principal fue cortado por análisis de HPLC analítico de fracciones recolectadas, reunido y liofilizado, para dar 41 mg (22%) de un polvo amorfo, blanco. Este compuesto fue homogéneo por HPLC. LR- Electrospray C₅₁H₆₃N₁₁O₇, cal: 942, observado: m/z (943 M + H).

Ejemplo de actividad biológica

Ejemplo A

Ensayo Agonista

Método

Descripción: se transfectaron células 293 (ATCC CRL-1573) con construcciones de ADN que comprendían ya sea el ADN de receptor MC-4, o el ADN de receptor MC-1, y se desarrollaron en placas de 96 pocillos. El ADN codificador de MC-4 y MC-1 y las correspondientes secuencias proteicas son conocidas en el arte, y se describen, por ejemplo, en Cone y otros, Rec. Prog. Hormone Res. (1996) 51: 287-318. las células fueron estimuladas ya sea con NDP- α MSH 100 nM, o con compuestos de rastreo. Se extrajo APM cíclica de las células y se determinaron las concentraciones usando un ensayo Biotrak-cAMP SPA. Los agonistas se identificaron con aquellos compuestos que causan un incremento en AMPc.

Cultivo de células: las células 293MC4 (obtenidas como se describe anteriormente) se cultivaron en recipientes de 75 cm² en D.MEM suplementado con FCS al 10% y 500 μ g/ml G418. Las células fueron tripsinadas y divididas 1:3 en placas de cultivo de tejido tratadas, de base plana, de 96 recipientes. Las células se estimularon a confluencia (día 2-4).

Respuesta de AMPc: los compuestos diluidos en forma serial en DMSO al 100% se diluyeron adicionalmente 1:200 (2,5 μ l dilución de compuesto + 500 μ l medio) en D-MEM que contenía FBS al 10% e IBMX 0,1 mM. Para células no estimuladas, se agregó 2,5 μ l de DMSO a 500 μ l de medio. Para células estimuladas con NDP- α MSH, se agregó 2,5 μ l de NDP- α MSH 20 μ M en DMSO al 100% a 500 μ l de medio (conc. Final 100nM).

La concentración final de DMSO en todos los recipientes fue 0,5%.

Observación: cada muestra se hizo por duplicado, en placas separadas.

Medio cultivo: fue separado de placas de cultivo de 96 pocillos confluentes, y reemplazado con 200 μ l de las diluciones mencionadas anteriormente, en los recipientes apropiados. Las placas se incubaron durante 1 hora a TA. Se separó el medio, y las placas se lavaron 1x con 200 μ l por recipiente de PBS. Se extrajo CAMP por medio de la adición de 60 μ l de etanol al 70% (almacenado en el refrigerador). Después de un período de extracción de 30 minutos, un extracto de etanol de 10 μ l fue transferido a la placa de ensayo de AMPc, o las muestras se almacenaron a -20°C hasta que se efectuó el ensayo de AMPc.

Ensayo de AMPc: las muestras extraídas y todos los reactivos incluidos en el equipo se llevaron a temperatura ambiente. A una OptiPlate de 96 recipientes, se agregaron extracto de etanol 10 μ l tampón de ensayo 40 μ l [125I] AMPc 50 μ l antisuero 50 μ l y perlas de SPA 50 μ l. El volumen total del recipientes luego de la adición fue 200 μ l. Las placas se sellaron y se incubaron durante 15-20 horas a temperatura ambiente. El enlace de [125I]AMPc a las perlas de SPA se determinó contando cada placa durante 2 minutos, en un Packard TopCountTM.

Observación: cada placa contenía muestras de control para células no estimuladas, y NDP- α MSH para células estimuladas.

ES 2 304 128 T3

Ejemplo A

En forma convencional pueden prepararse comprimidos conteniendo los ingredientes siguientes:

<u>Ingredientes</u>	<u>Por comprimido</u>
Compuesto de fórmula I	10,0 - 100,0 mg
Lactosa	125,0 mg
Almidón de maíz	75,0 mg
Talco	4,0 mg
Estearato de magnesio	10 mg

Ejemplo B

En forma convencional pueden prepararse cápsulas conteniendo los ingredientes siguientes:

<u>Ingredientes</u>	<u>Por cápsula</u>
Compuesto de fórmula I	25,0 mg
Lactosa	150,0 mg
Almidón de maíz	20,0 mg
Talco	5,0 mg

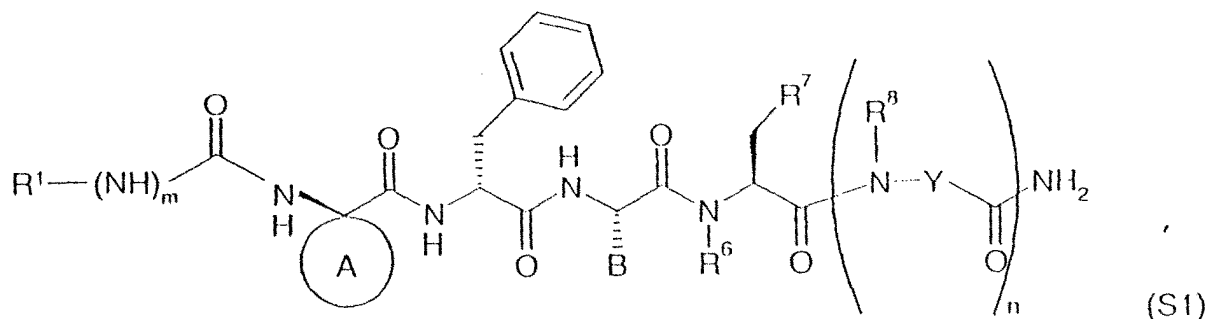
Ejemplo C

Soluciones de inyección pueden tener la composición siguiente:

Compuesto de fórmula I	30 mg
Gelatina	150,0 mg
Fenol	4,7 mg
Agua para soluciones de inyección	hasta 2,0 ml

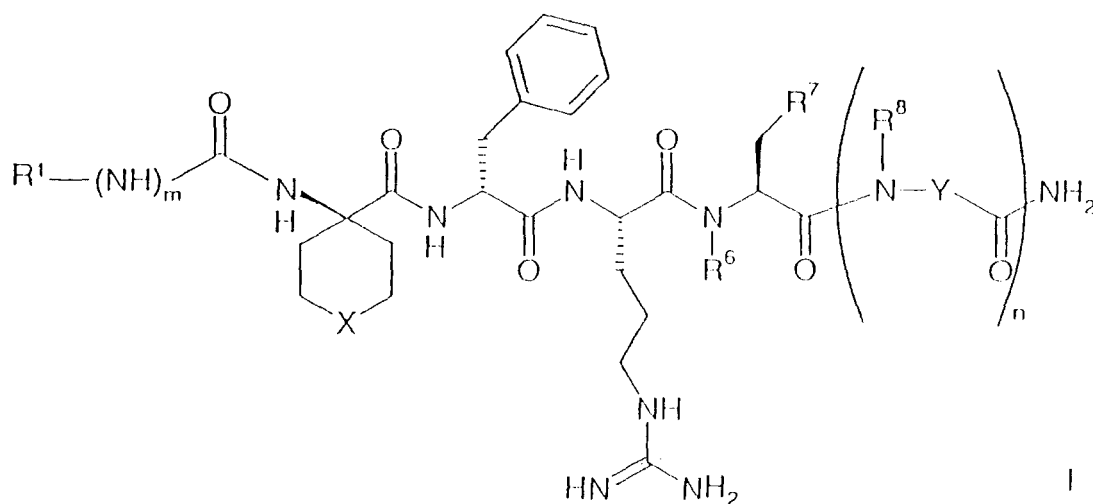
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que comprende la siguiente estructura (S1):



20 en donde R¹, R⁶, R⁷, R⁸, m, n, A y B son como se definen en a) a d), y en donde el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste de

25 a) un compuesto de la fórmula:



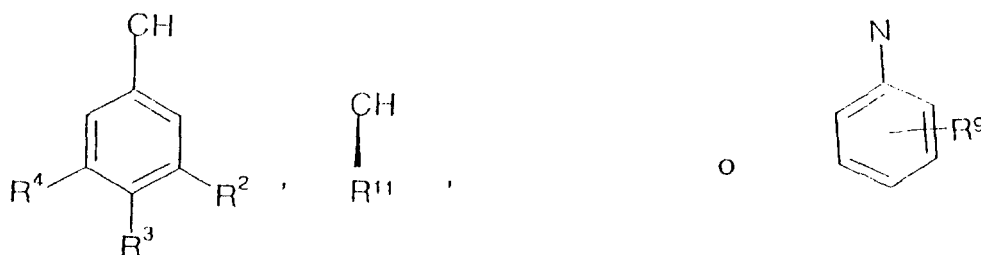
en donde

m es 0 ó 1;

50 n es 0 ó 1;

R¹ es un alquilo lineal o ramificado insustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo no sustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

55 X es



ES 2 304 128 T3

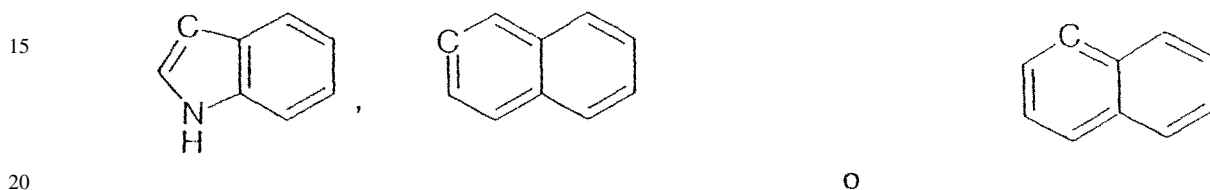
en donde R^2 , R^3 y R^4 son independientemente hidrógeno o un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono, en donde cuando R^3 es alcoxi, R^4 y son ambos hidrógeno;

5 R^9 es hidrógeno, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o fenoxi no sustituido;

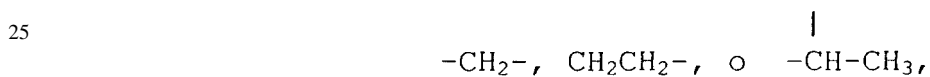
R^{11} es ciclohexilo, cicloheptilo, o un alquilo ramificado que tiene desde 3 a 8 átomos de carbono;

10 R^6 es hidrógeno o metilo;

R^7 es

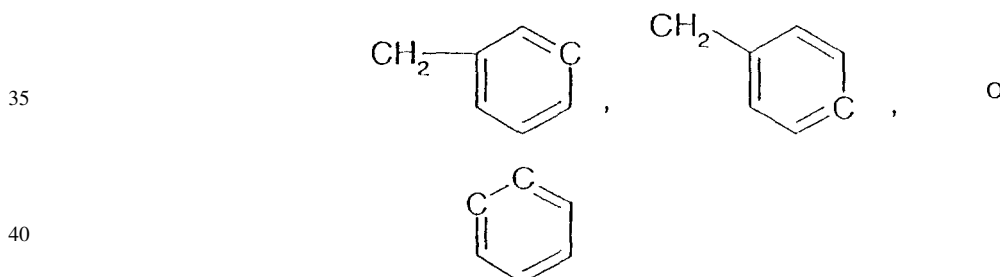


Y es



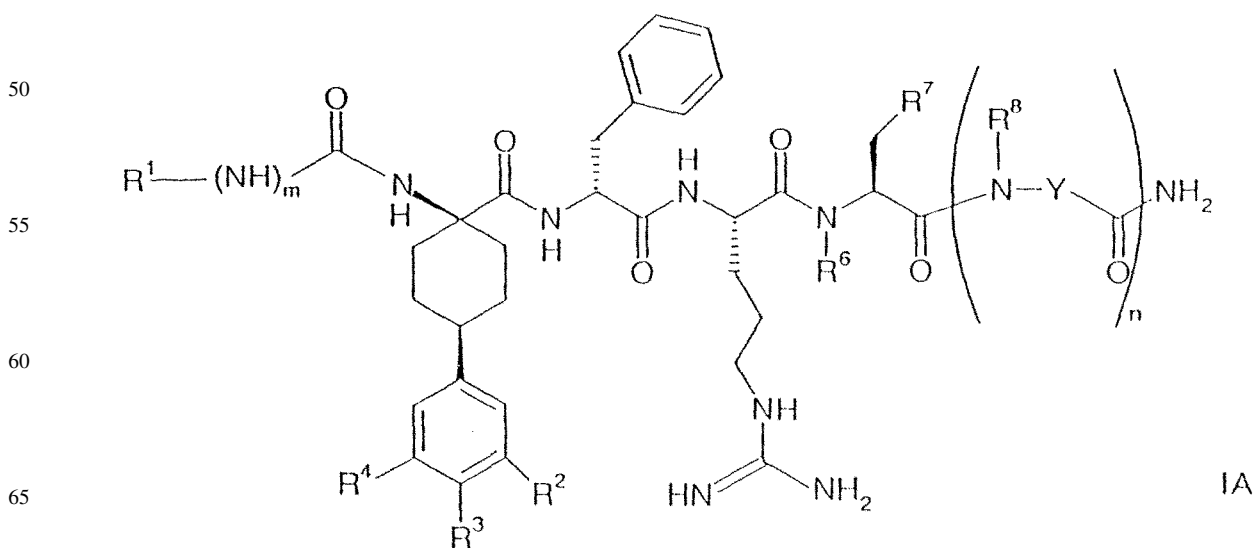
y R^8 es hidrógeno o metilo; o

30 Y es



y R^8 es hidrógeno;

45 b) un compuesto de la fórmula:



en donde

m es 0 ó 1;

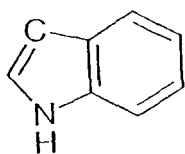
5 n es 0 ó 1;

R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo no sustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

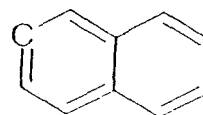
10 R², R³, y R⁴ son independientemente hidrógeno; un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono; hidroxilo, un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono; o cloro, en donde cuando R³ es alquilo, hidroxilo, alcoxi o cloro, R² y R⁴ son ambos hidrógeno;

15 R⁶ es hidrógeno o metilo;

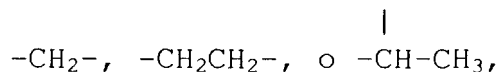
R⁷ es



o

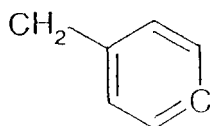


25 Y es

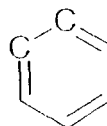


y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

35 Y es

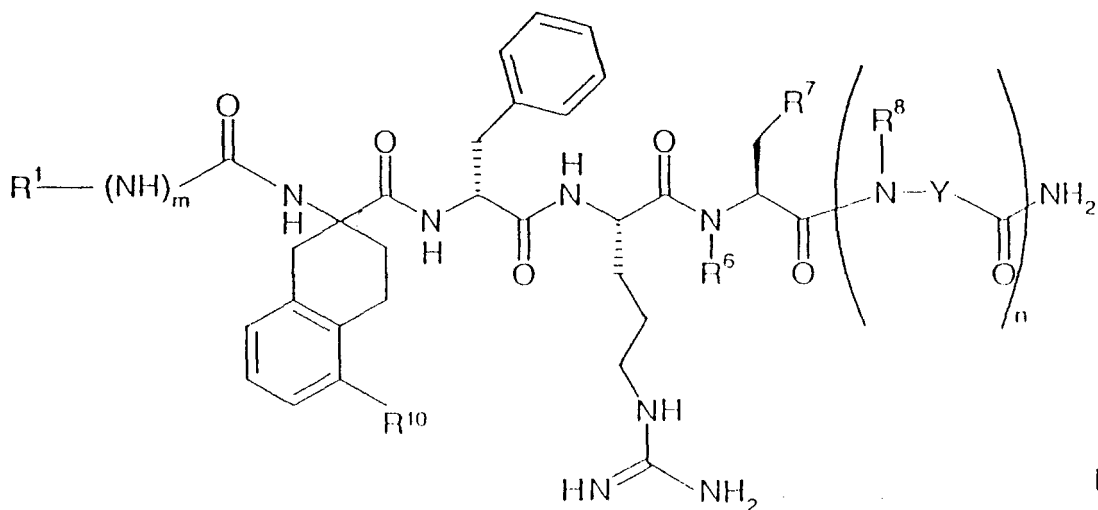


o



45 y R⁸ es hidrógeno;

c) un compuesto de la fórmula:



en donde

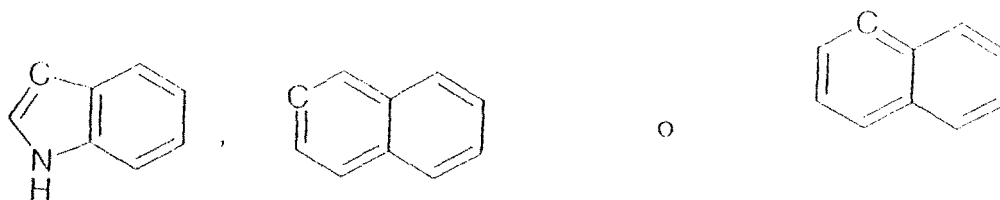
m es 0 ó 1;

5 n es 0 ó 1;

R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; o fenilo insustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

10 R⁷ es

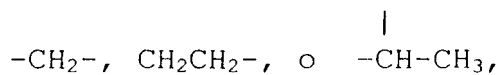
15



20

Y es

25

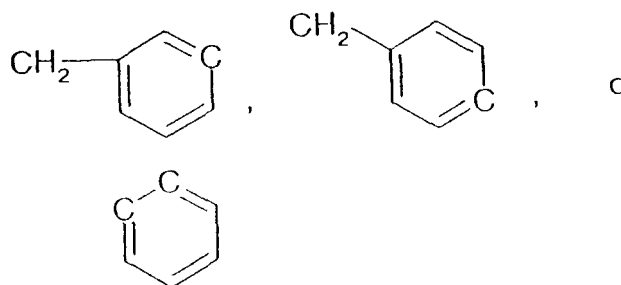


30

y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

35 Y es

40



45

50

y R⁸ es hidrógeno

55

R¹⁰ es hidrógeno, halo, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, o NR¹²R¹³ en donde R¹² y R¹³ son cada uno independientemente un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o juntos son $-(CH_2)_q-$ en donde q es 3, 4 ó 5;

y

60

65

ES 2 304 128 T3

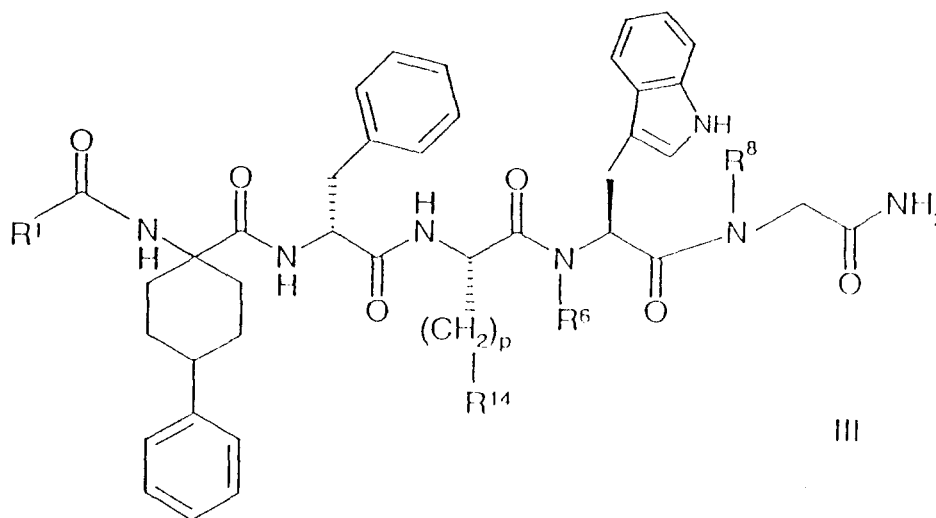
d) un compuesto de la fórmula:

5

10

15

20



25 en donde

R¹ es alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono;

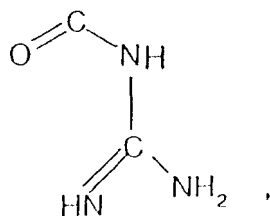
R⁶ es hidrógeno o metilo;

30

R⁸ es hidrógeno o metilo;

p es 2, 3, ó 4 y R¹⁴ es

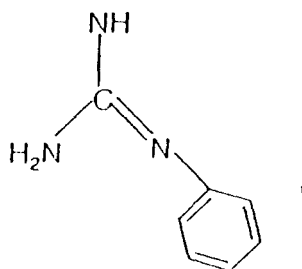
35



40

45 o p es 4 y R¹⁴ es

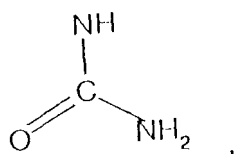
50



55

o p es 3 y R¹⁴ es

60



65

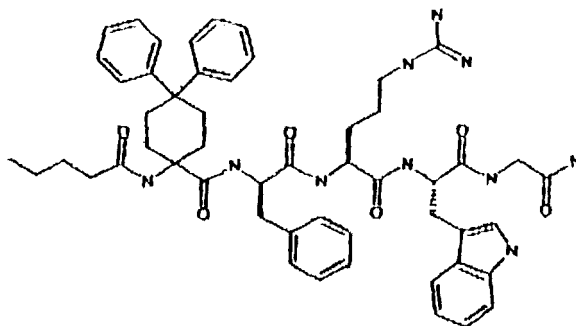
o

e)

5

10

15



20

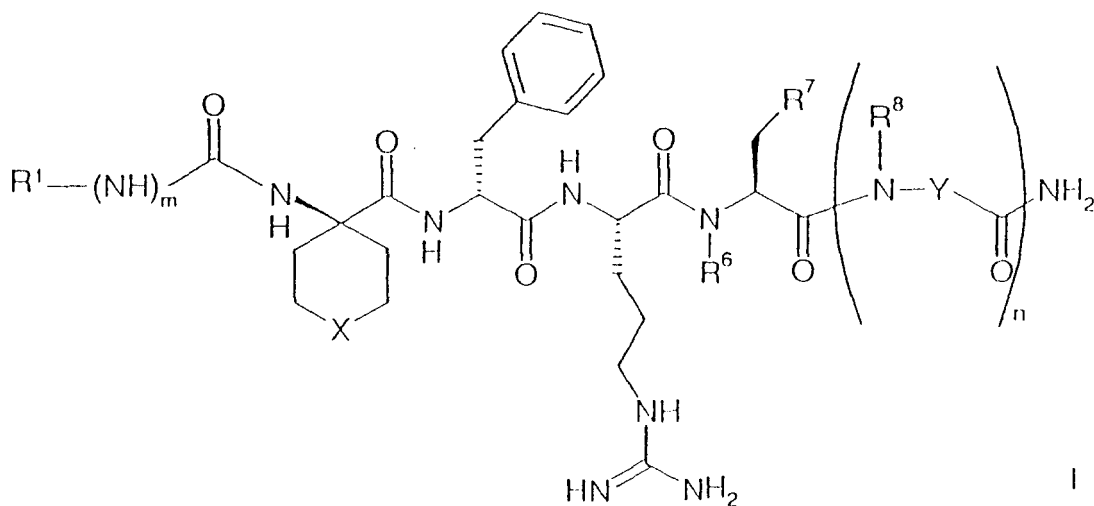
2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, de la fórmula:

25

30

35

40



en donde

45

m es 0 ó 1;

n es 0 ó 1;

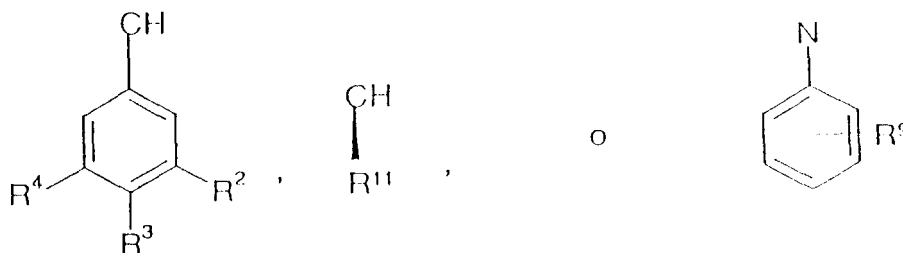
50

R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo insustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

X es

55

60



65

en donde R² y R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno o un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono, en donde cuando R³ es alcoxi, R² y R⁴ son ambos hidrógeno;

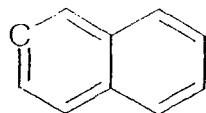
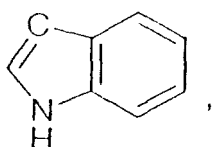
ES 2 304 128 T3

R⁹ es hidrógeno, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o fenoxi insustituido;

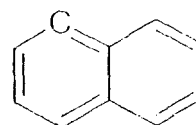
R¹¹ es ciclohexilo, cicloheptilo, o un alquilo ramificado que tiene desde 3 a 8 átomos de carbono;

R⁶ es hidrógeno o metilo;

R⁷ es



o

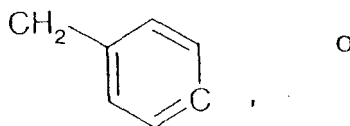
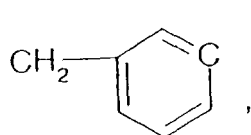


Y es

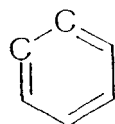
25
-CH₂-, -CH₂CH₂-, o -CH-CH₃,

30 y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

Y es



o



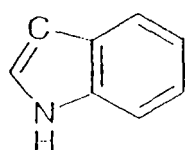
45

50 y R⁸ es hidrógeno.

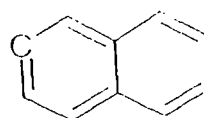
3. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R⁶ es hidrógeno y R⁸ es hidrógeno.

4. El compuesto de la reivindicación 2, en donde n es 1.

55 5. El compuesto de la reivindicación 2, en donde R⁷ es



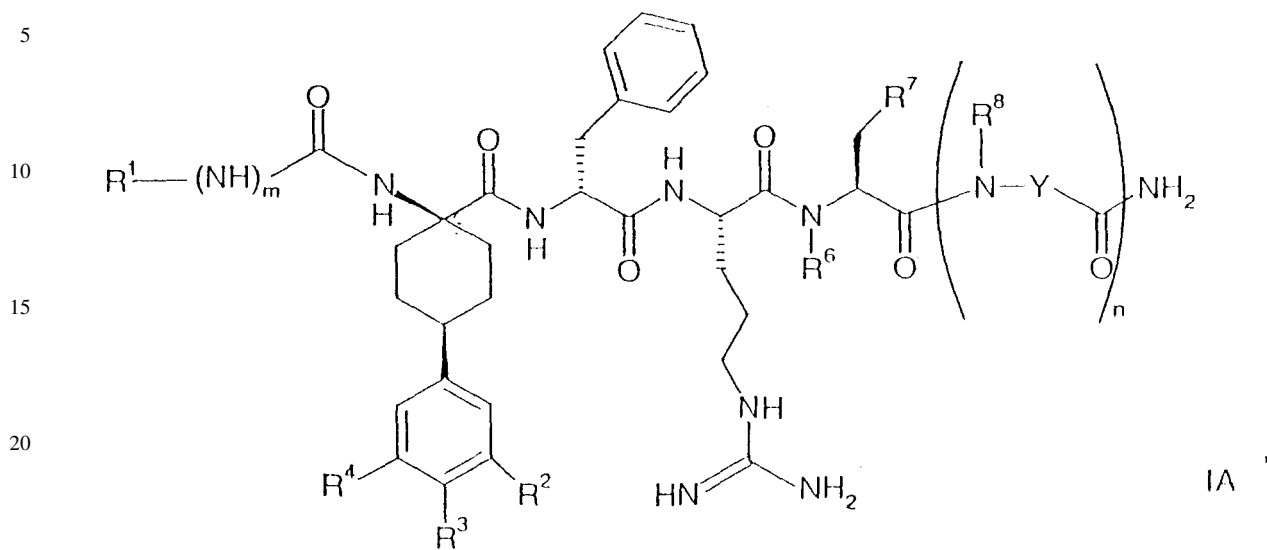
o



65

ES 2 304 128 T3

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, de la fórmula:



en donde

m es 0 ó 1;

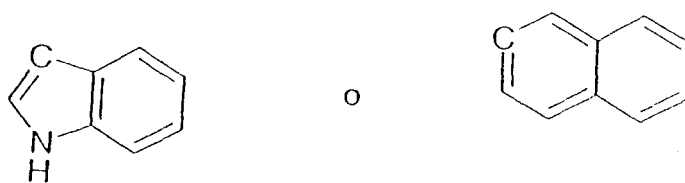
n es 0 ó 1;

R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; fenilo insustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

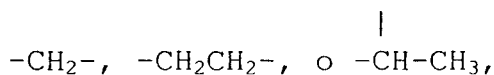
R², R³ y R⁴ son independientemente hidrógeno; un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono; hidroxilo, un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono; o cloro, en donde cuando R³ es alquilo, hidroxilo, alcoxi o cloro, R² y R⁴ son ambos hidrógeno;

R⁶ es hidrógeno o metilo;

R⁷ es



55 Y es



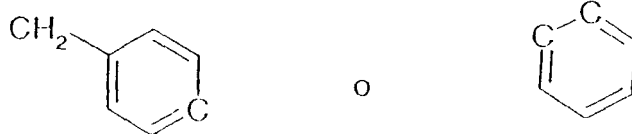
y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

65

ES 2 304 128 T3

Y es

5



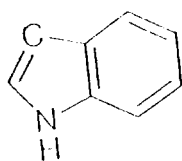
10

y R^8 es hidrógeno.

15

7. El compuesto de la reivindicación 6, en donde R^7 es

20



25

8. El compuesto de la reivindicación 7, en donde n es 0.

30

9. El compuesto de la reivindicación 7, en donde n es 1.

35

10. El compuesto de la reivindicación 9, en donde Y es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, o $-\overset{\text{I}}{\text{C}}\text{H}-\text{CH}_3$.

11. El compuesto de la reivindicación 10, en donde m es 1.

12. El compuesto de la reivindicación 10, en donde m es 0.

40

13. El compuesto de la reivindicación 12, en donde R^2 , R^3 y R^4 son hidrógeno.

14. El compuesto de la reivindicación 13, en donde R^1 es alquilo lineal no sustituido.

15. El compuesto de la reivindicación 13, en donde R^1 es fenilo no sustituido.

45

16. El compuesto de la reivindicación 12, en donde R^3 es alquilo, hidroxilo, alcoxi o cloro.

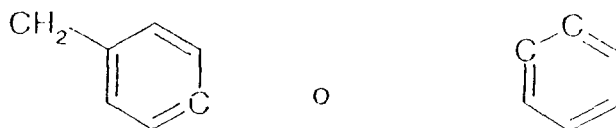
17. El compuesto de la reivindicación 16, en donde R^3 es hidroxilo o alcoxi.

50

18. el compuesto de la reivindicación 12, en donde R^2 es alcoxi, R^3 es hidrógeno y R^4 es hidrógeno.

19. El compuesto de la reivindicación 9, en donde Y es

55



60

20. El compuesto de la reivindicación 19, en donde m es 1.

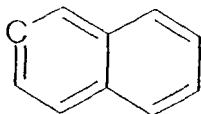
65

21. El compuesto de la reivindicación 19, en donde m es 0.

ES 2 304 128 T3

22. El compuesto de la reivindicación 6, en donde R^2 , R^3 y R^4 son hidrógeno, y R^7 es

5

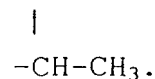


10

23. El compuesto de la reivindicación 22, en donde n es 1 y m es 0.

15

24. El compuesto de la reivindicación 23, en donde Y es $-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, o



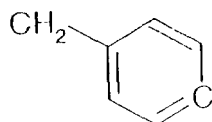
25. El compuesto de la reivindicación 24, en donde R^1 es un alquilo lineal no sustituido.

20

26. El compuesto de la reivindicación 24, en donde R^1 es fenilo no sustituido; o alquilo sustituido con fenilo o carboxilo.

27. El compuesto de la reivindicación 23, en donde R^1 es alquilo inferior no sustituido, e Y es

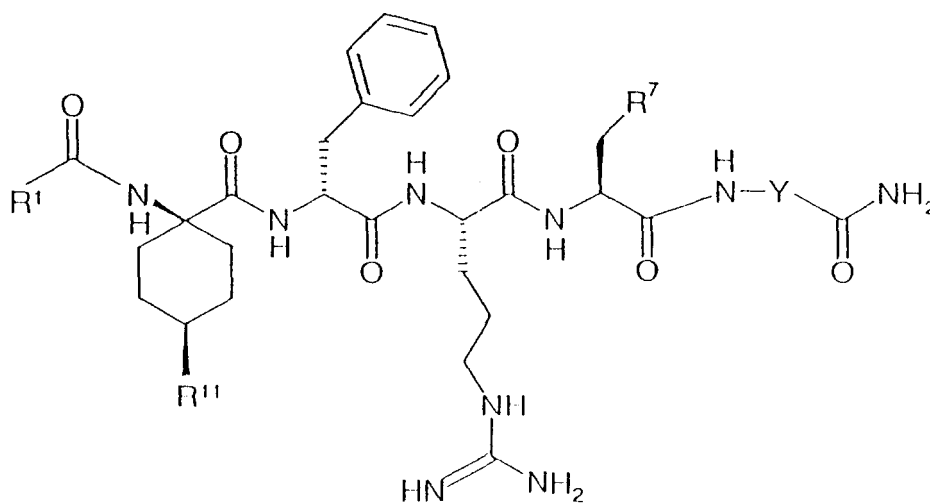
25



30

28. El compuesto de la reivindicación 2, de la fórmula:

35



45

50

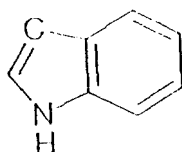
IB

R^1 es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono;

55

R^7 es

60



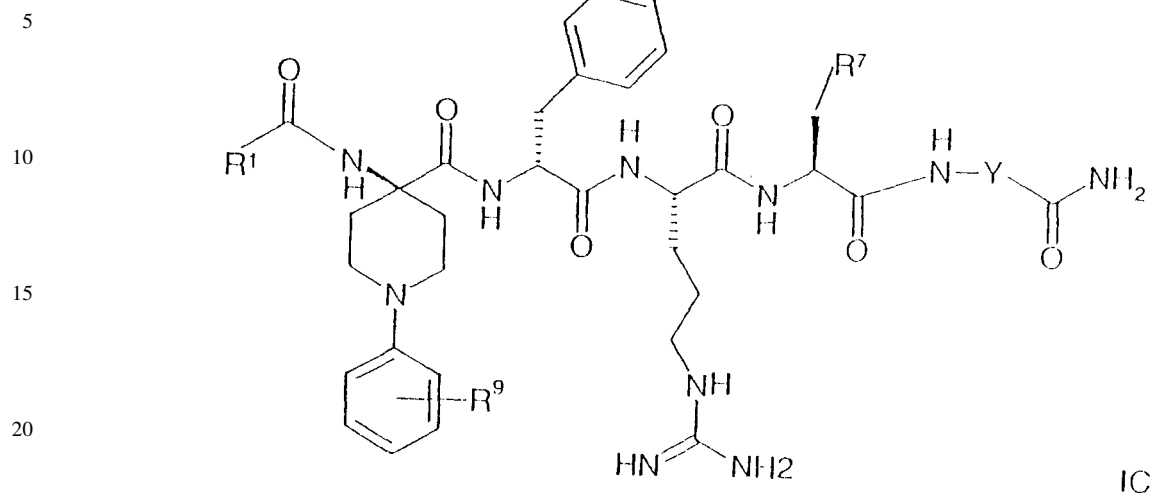
65

R^{11} es ciclohexilo, o un alquilo ramificado que tiene desde 3 a 8 átomos de carbono; e

Y es $-\text{CH}_2-$.

ES 2 304 128 T3

29. El compuesto de la reivindicación 2, de la fórmula:



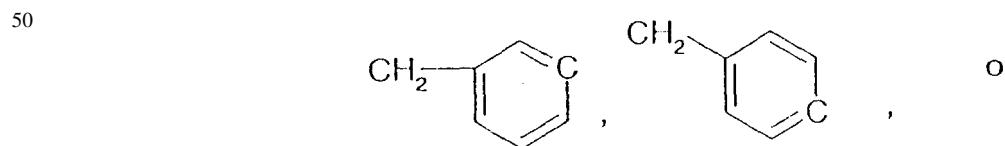
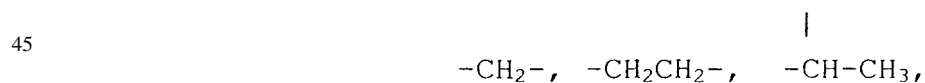
25 en donde

R¹ es un alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono;

30 R⁷ es



40 Y es



60 y

65 R⁹ es hidrógeno, un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, flúor, cloro, o fenoxi no sustituido.

30. El compuesto de la reivindicación 29, en donde R⁹ es hidrógeno.

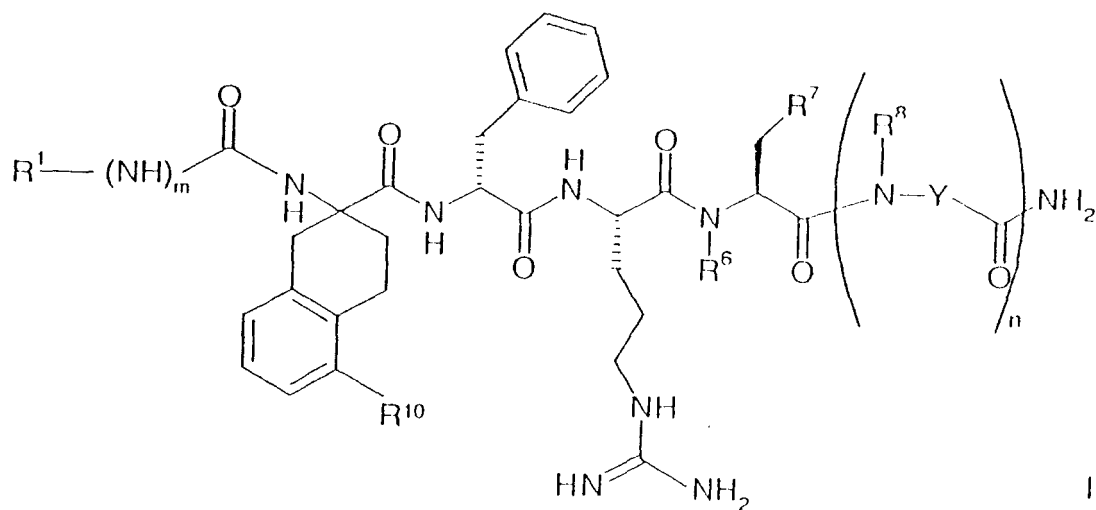
ES 2 304 128 T3

31. El compuesto de la reivindicación 29, en donde R⁹ es un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono.

32. El compuesto de la reivindicación 29, en donde R⁹ es un alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, o fenoxi no sustituido.

33. El compuesto de la reivindicación 29, en donde R⁹ es cloro.

34. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, de la fórmula:



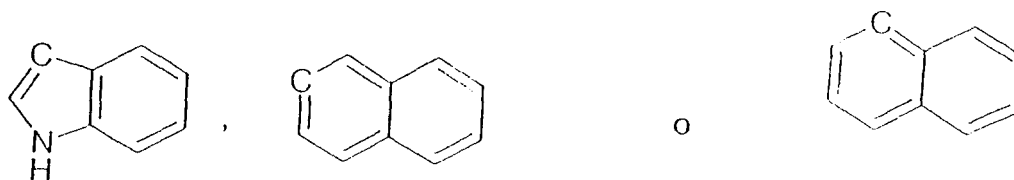
en donde

m es 0 ó 1;

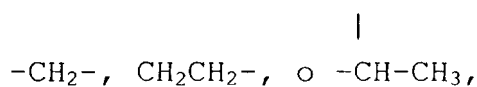
n es 0 ó 1;

R¹ es un alquilo lineal ramificado no sustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono; alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 8 átomos de carbono monosustituido con fenilo o carboxilo; o fenilo no sustituido; o fenilo monosustituido con flúor, cloro o alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 4 átomos de carbono;

R⁷ es



Y es

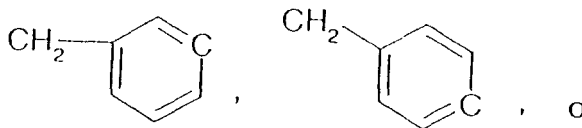


y R⁸ es hidrógeno o metilo; o

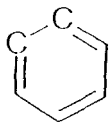
ES 2 304 128 T3

Y es

5



10



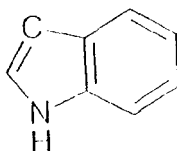
15 y R⁸ es hidrógeno;

R¹⁰ es hidrógeno, halo, alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono, o NR¹²R¹³ en donde R¹² y R¹³ son cada uno independientemente un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 carbonos, o juntos son -(CH₂)_q- en donde q es 3, 4 ó 5.

20

35. El compuesto de la reivindicación 34, en donde R⁶ y R⁸ son cada uno hidrógeno; R⁷ es

25



30

y n es 1.

36. El compuesto de la reivindicación 35, en donde Y es -CH₂- y m es 0.

37. El compuesto de la reivindicación 36, en donde R¹⁰ es hidrógeno, o un alquilo lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono.

35

38. El compuesto de la reivindicación 36, en donde R¹⁰ es halo.

39. El compuesto de la reivindicación 36, en donde R¹⁰ es alcoxi lineal o ramificado que tiene desde 1 a 3 átomos de carbono.

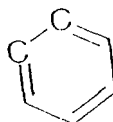
40

40. El compuesto de la reivindicación 36, en donde R¹⁰ es -NR¹²R¹³, y R¹² y R¹³ son ambos metilo.

41. El compuesto de la reivindicación 35, en donde Y es

45

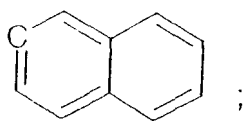
50



55 y R¹⁰ es halo.

42. El compuesto de la reivindicación 34, en donde R⁶ y R⁸ son hidrógeno; R⁷ es

60



65

y R¹⁰ es halo.

ES 2 304 128 T3

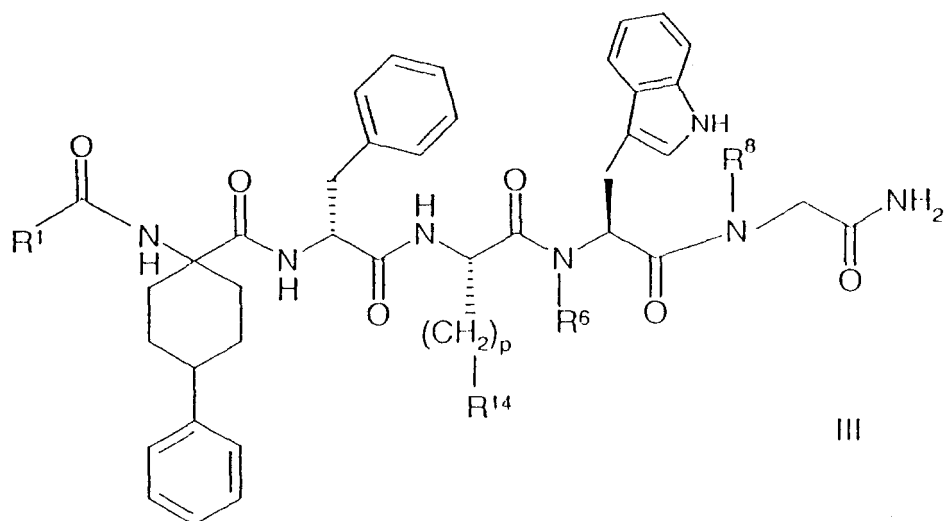
43. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de la fórmula:

5

10

15

20



25 en donde

R^1 es alquilo lineal o ramificado no sustituido que tiene desde 4 a 8 átomos de carbono;

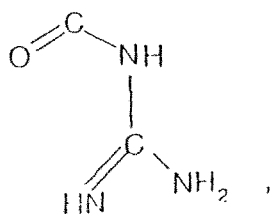
R^6 es hidrógeno o metilo;

30

R^8 es hidrógeno o metilo;

p es 2, 3, ó 4 y R^{14} es

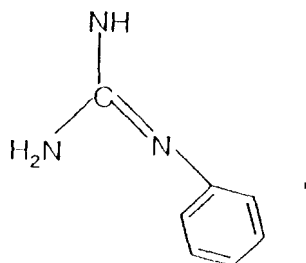
35



40

45 o p es 4 y R^{14} es

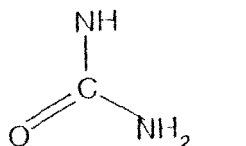
50



55

60 o p es 3 y R^{14} es

65



ES 2 304 128 T3

44. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 43, seleccionado entre el grupo que consiste de

5 Penta-Apc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-4-MeOApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-4-EtOApc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

10 Bu-Apc-(D)-Arg(2)Nal-beta-Ala-NH₂,

Penta-Apc-(D)Phe-Cit-Trp-Gly-NH₂,

Penta-Abc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

15 Penta-Achc-(D)-Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

Penta-5-BrAtc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂,

20 Penta-Appc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂, y

Penta-4-MeAppc-(D)Phe-Arg-Trp-Gly-NH₂.

45. Un proceso para la preparación de compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44, cuyo proceso comprende disociar un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44, que está ligado a un soporte sólido, de dicho soporte sólido, con ácido.

46. Compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44, cuando son fabricados por un proceso de acuerdo con la reivindicación 45.

30 47. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44, y un portador y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

48. Compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44 para uso como sustancias activas terapéuticas, particularmente para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades que están asociadas con el receptor de la melanocortina-4, tal como obesidad.

49. El uso de compuestos de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44, para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades que están asociadas con el receptor de melanocortina-4, tal como obesidad.

45

50

55

60

65