



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 285 838**

51 Int. Cl.:

C07C 229/00 (2006.01)

C07C 233/01 (2006.01)

C07C 237/06 (2006.01)

A61K 31/19 (2006.01)

A61K 31/195 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **99918686 .9**

86 Fecha de presentación : **19.04.1999**

87 Número de publicación de la solicitud: **1073623**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **07.02.2001**

54

Título: **Amino ácidos sustituidos como miméticos de eritropoyetina.**

30

Prioridad: **20.04.1998 US 82392 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2007

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2007

73

Titular/es: **Ortho-McNeil Pharmaceutical, Inc.**
U.S. Route nº 202
Raritan, New Jersey 08869-0602, US

72

Inventor/es: **Connolly, Peter y**
Murray, William

74

Agente: **Ungría López, Javier**

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

Amino ácidos sustituidos como miméticos de eritropoyetina.

5 Esta invención se refiere a una serie de pequeñas moléculas que se unen al receptor de eritropoyetina y compiten con el ligando natural por la unión a dicho receptor. La invención incluye composiciones farmacéuticas que contienen estos miméticos, sus métodos de producción así como los usos médicos de estos miméticos.

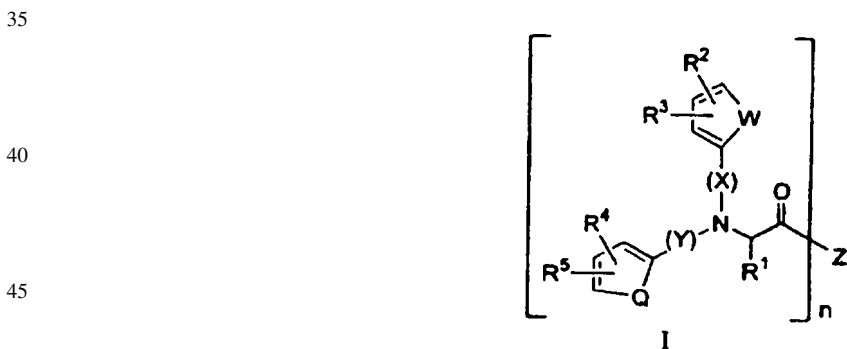
10 La eritropoyetina (EPO) es una hormona glicoproteica que es producida en los riñones de los mamíferos y tiene un peso molecular de aproximadamente 34.000 daltons. Su papel principal es la estimulación de la división mitótica de las células y la diferenciación de las células precursoras de eritrocitos. Como resultado esta hormona regula la producción de eritrocitos, la hemoglobina contenida en ellos y la capacidad de la sangre para transportar oxígeno. El producto comercial Epogen® se utiliza en el tratamiento de la anemia. El fármaco se produce mediante técnicas recombinantes y se formula en cloruro de sodio/citrato de sodio isotónico acuoso. Incluso aunque se ha utilizado con éxito en el tratamiento de la anemia, es un fármaco costoso que se administra intravenosamente. Este método de administración es costoso e inconveniente para el paciente; por consiguiente sería deseable encontrar un mimético de EPO que tuviera el potencial para la administración oral.

20 Un mimético de EPO de molécula pequeña tiene ventajas sobre la proteína natural. Es improbable que se produzca una respuesta inmunitaria asociada a péptidos grandes con moléculas pequeñas. Además, la variedad de formulaciones farmacéuticas que se pueden utilizar con las moléculas pequeñas son técnicamente no factibles para las proteínas. En ese caso es posible el uso de formulaciones relativamente inertes para las moléculas pequeñas. La ventaja más importante de las moléculas pequeñas es su potencial para la actividad oral. Tal agente sería de fácil administración, menor coste y facilitaría la conformidad del paciente.

25 Si bien los compuestos que mimetizan EPO son útiles para estimular la síntesis de glóbulos rojos, existen enfermedades en las que es un problema la producción en exceso de glóbulos rojos. La eritroleucemia y la policitemia vera son ejemplos de tales enfermedades. Puesto que la EPO es un agente responsable de la maduración de los precursores de los glóbulos rojos, un antagonista de EPO podría tener utilidad en el tratamiento de cualquiera de esas enfermedades.

30 Compendio de la invención

La invención descrita está inspirada en una serie de moléculas pequeñas de Fórmula I:



50 como se define en la reivindicación 1, que demuestran la unión competitiva al receptor natural de EPO. Por sí mismos, estos compuestos son potencialmente útiles en el tratamiento de enfermedades o condiciones asociadas a este receptor.

Así, la presente invención proporciona:

55 un compuesto de Fórmula I, para su uso como medicamento, donde la Fórmula I se define como en la reivindicación 1;

una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de Fórmula I, como se define en la reivindicación 12;

60 un método para elaborar tal composición farmacéutica, como se define en la reivindicación 13;

un método *in vitro* para modular un receptor de EPO, como se define en la reivindicación 14;

65 el uso de un compuesto de Fórmula I en la fabricación de un medicamento, como se define en la reivindicación 15; y

algunos compuestos de Fórmula I *per se*, como se define en la reivindicación 16.

Algunos compuestos que se encuentran en la definición de la Fórmula I dada en la reivindicación 1 se describen en:

Kawase, Tetrahedron Letters, 35, 1, 149-152, 1994;

Hoffman & Tao, J. Org. Chem., 62, 2292-2297, 1997; y

Bonjoch *et al.*, Tetrahedron: Asymmetry, 8, 18, 3143-3151, 1997.

Estos compuestos han sido rechazados en la reivindicación 16.

Las características preferidas de la invención se enumeran en las reivindicaciones 2 a 11.

Descripción detallada de la invención

Los términos utilizados al describir la invención son utilizados y conocidos comúnmente por los expertos en la técnica. "Independientemente" significa que cuando hay más de un sustituyente, los sustituyentes pueden ser diferentes. El término "alquilo" hace referencia a grupos alquilo de cadena lineal, cíclica y ramificada y "alcoxi" hace referencia a O-alquilo donde alquilo se define como antes. "Cbz" hace referencia a benziloxicarbonilo. "Boc" hace referencia a t-butoxicarbonilo y "Ts" hace referencia a toluenosulfonilo. "DCC" hace referencia a 1,3-diciclohexilcarbodiimida, "DMAP" hace referencia a 4-N,N-dimetilaminopiridina y "HOBT" hace referencia a hidrato de 1-hidroxibenzotriazol. "Fmoc" hace referencia a N-(9-fluorenilmetoxicarbonilo), "DABCO" hace referencia a 1,4-Diazabicyclo[2,2,2]octano, "EDCI" hace referencia a 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, y "Dde" hace referencia a 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexilideno)-etilo. Las cadenas laterales de los α -aminoácidos hacen referencia a los sustituyentes del carbono estereogénico de un α -aminoácido. Por ejemplo si el aminoácido es lisina, la cadena lateral es 1-aminobutan-4-ilo. El término aminoácido natural hace referencia a los 20 α -aminoácidos de la configuración L que se han encontrado en las proteínas naturales. Los α -aminoácidos no naturales incluyen aminoácidos sintéticos tales como, ácido-aminoadípico, ácido 4-aminobutanoico, ácido 6-aminohexanoico, ácido-aminosubérico, ácido 5-aminopentanoico, p-aminofenilalanina, ácido-aminopimélico, ácido-carboxiglútamico, p-carboxifenilalanina, carnitina, citrulina, ácido-diaminopropiónico, ácido-diaminobutírico, homocitrulina, homoserina, y estatina así como aminoácidos en configuración D. El término "grupo protegible" hace referencia a grupos hidroxilo, amino, carboxi, carboxamida, guanidina, amidina o tiol en un aminoácido lateral. Los compuestos de la invención se pueden preparar siguiendo procedimientos generales conocidos por los expertos en la técnica, y los mostrados en la presente memoria.

Los compuestos de la invención se pueden preparar mediante técnicas de síntesis orgánica en fase líquida o utilizando aminoácidos que están unidos a algunas resinas conocidas. En la química fundamental, es decir, en las reacciones de acilación y alquilación, reacciones de protección y desprotección de péptidos así como reacciones de acoplamiento de péptidos se utilizan condiciones y reactivos similares. La distinción principal entre los dos métodos se encuentra en las sustancias de partida. Mientras que las sustancias de partida para las síntesis en fase líquida son los aminoácidos protegidos en N o los derivados éster de alquilo inferior de los aminoácidos protegidos en N, la sustancia de partida para las síntesis de la resina son aminoácidos que se unen a las resinas por sus extremos carboxi.

Procedimiento General para la Síntesis en Fase Sólida de Aminoácidos N,N-Disustituídos Simétricos

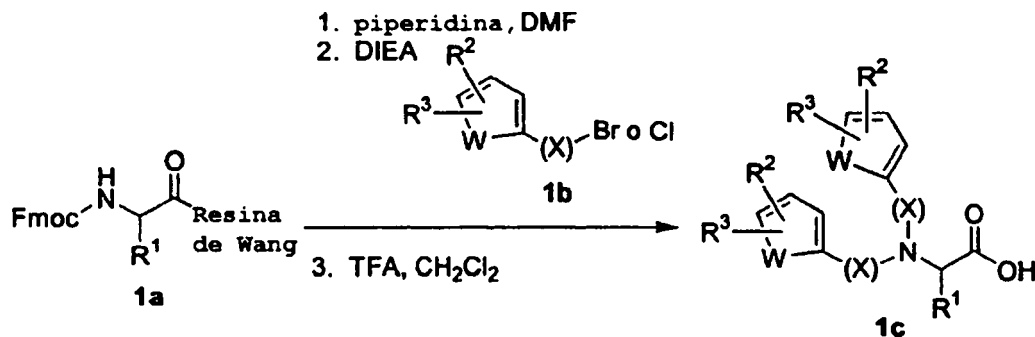
Esquema 1

Un equivalente de un aminoácido protegido en N con Fmoc que está unido a una resina 1a se suspende en un disolvente adecuado tal como DMF. Este disolvente se elimina y el grupo protector de nitrógeno (Fmoc) se elimina agitando el aminoácido unido a la resina con una base orgánica, tal como piperidina, y una porción de adición del disolvente. Se añade una solución de aproximadamente dos a tres equivalentes de un haluro apropiadamente sustituido, 1b, y una base adecuada tal como DIEA al aminoácido unido a la resina y esta mezcla se sacude durante 18-36 h. La mezcla resultante se lava con varias porciones de un disolvente adecuado y se suspende y se sacude en una solución ácida, tal como TFA/CH₂Cl₂ al 50%, durante varias horas para escindir el ácido de la resina y dar el aminoácido N-disustituído 1c.

Variando el aminoácido 1a unido a la resina, se pueden obtener muchos de los compuestos de la invención. Se pueden utilizar los siguientes aminoácidos unidos a resina en el Esquema I: alanina, N-g-(4-metoxi-2,3,6-trimetilbencenosulfonil)arginina, -(4-metiltritol)-asparagina, ácido aspártico (éster-t-butílico), S-(tritol)cisteína, -(4-metiltritol)glutamina, ácido glutámico (éster-t-butílico), glicina, N-imidazolil-(tritol)histidina, isoleucina, leucina, N-(2-clorobenciloxicarbonil)lisina, N-(t-butoxicarbonil)-lisina, metionina, fenilalanina, prolina, O-(t-butil)serina, O-(t-butil)treonina, N-indolil-(t-butoxicarbonil)triptófano, O-(t-butil)tirosina, valina, -alanina, ácido-aminoadípico, ácido 4-aminobutanoico, ácido 6-aminohexanoico, ácido-aminosubérico, ácido 5-aminopentanoico, p-aminofenilalanina, ácido-aminopimélico, ácido-carboxiglútamico, p-carboxifenilalanina, carnitina, citrulina, ácido-diaminopropiónico, ácido-diaminobutírico, homocitrulina, homoserina, y estatina. Además, la elección de "W" y "X" puede variar utilizando derivados haluro conocidos de 1b. Por ejemplo utilizando cloruro de bencilo, 2-clorometiltiofeno, o 2-clorometilpiridina se producen los compuestos de la invención donde "W" es -CH=CH-, -S-, o -CH=N-, respectivamente. Para las variaciones en "X", el uso de 2-cloroetilfenilo, 3-cloro-1-propenilbenceno, o cloruro de benzoacetilo como 1b, producen compuestos donde Y es (CH₂)₂, -CH=CH-CH₂-, o -CH₂C(O)- respectivamente. Aun más, el Esquema 1 se puede utilizar

para producir mezclas combinatorias de productos. Utilizando mezclas de aminoácidos unidos a resina, 1a, con sólo un 1b se producen dichas mezclas combinatorias. Alternativamente, utilizando un aminoácido 1a con una mezcla de 1b así como una mezcla de 1a con mezclas de 1b se produce una amplia gama de mezclas combinatorias.

Esquema 1



Procedimiento General para la Síntesis en Fase Sólida de Aminoácidos N,N-Disustituidos Asimétricos

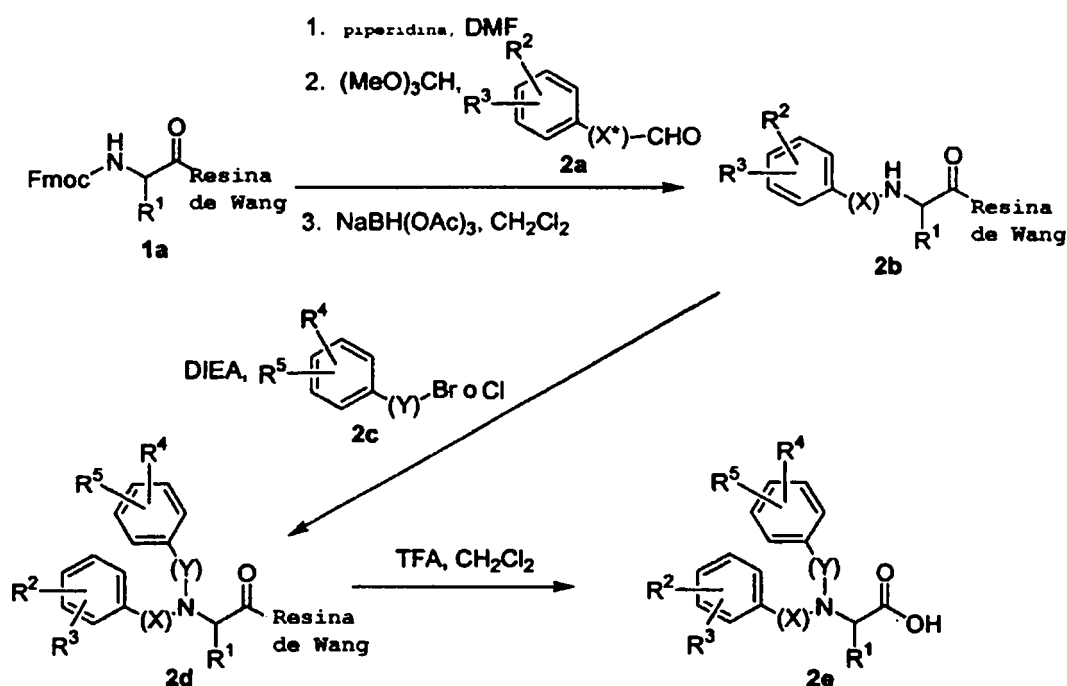
Esquema 2, Etapa A

Un equivalente de un aminoácido protegido en N con Fmoc que está unido a una resina 1a se suspende en un disolvente adecuado tal como DMF. Este disolvente se elimina y el grupo protector de nitrógeno (Fmoc) se elimina agitando el aminoácido unido a la resina con una base orgánica, tal como piperidina, y una porción de adición del disolvente. Se añade ortoformiato de trimetilo y un aldehído apropiadamente sustituido 2a (5 equivalentes) y la mezcla se sacude en N₂ durante la noche. Esta mezcla se trata con una suspensión de NaBH(OAc)₃ (5 equivalentes) en CH₂Cl₂ y se sacude en N₂ durante la noche. Después de la filtración y el lavado con un disolvente adecuado, el producto resultante, el aminoácido N-monosustituido unido a la resina 2b, se enjuaga con un disolvente adecuado y su identidad se confirma mediante MS, análisis HPLC o ambos tras el tratamiento de una porción de la resina con TFA/CH₂Cl₂ al 50%.

Esquema 2, Etapa B

La resina 2b se suspende en un disolvente apropiado tal como DMF y se filtra. El haluro de alquilo o arilalquilo apropiadamente sustituido, 2c, y una base apropiada tal como DIEA se añaden con algo de disolvente adicional y la mezcla se sacude en N₂ durante 18-36 h. El aminoácido N,N-disustituido unido a la resina, 2d, se aísla de la suspensión y la resina se escinde con una solución ácida para dar el ácido libre 2e.

Esquema 2



Esquema 3, Etapa C

Una amina unida a resina, 2d, donde R^4 es nitro, se suspende en un disolvente adecuado, tal como DMF, y se filtra. Esta mezcla se trata con dihidrato de SnCl_2 en DMF y se sacude en N_2 durante la noche. El disolvente se elimina y la resina se lava con porciones sucesivas de un disolvente adecuado para dar el compuesto unido a resina 3a donde R^4 es amino. La resina se suspende en un disolvente adecuado y se combina con una base orgánica, tal como piridina, un anhídrido de ácido carboxílico apropiadamente sustituido, cloruro de ácido, o cloruro de sulfonilo. La mezcla se sacude en N_2 durante la noche y se filtra para dar el aminoácido unido a resina 3b. Esta sustancia se trata con un ácido y un disolvente adecuado para dar el aminoácido libre 3b.

Esquema 3, Etapa D

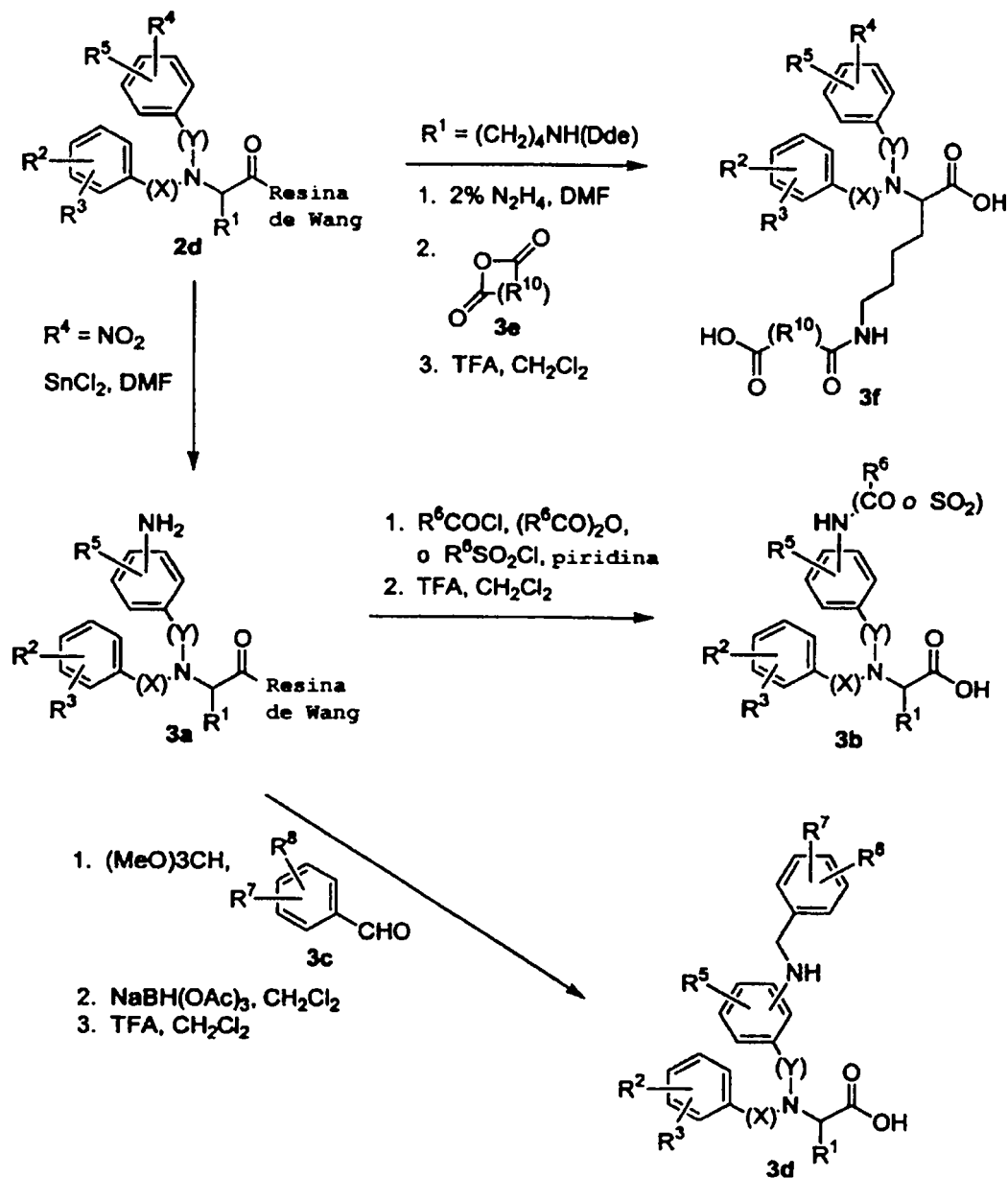
La amina unida a resina 3a se trata con TMOF y se añade un aldehído apropiadamente sustituido 3c y la mezcla se sacude en N_2 durante la noche. La mezcla resultante se drena y se trata con una suspensión de $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ en un disolvente apropiado y esta mezcla se sacude en N_2 durante la noche. El 3-aralquilaminofenilaminoácido unido a resina se identifica mediante técnicas espectrales tras su escisión para dar el ácido libre 3d como se ha descrito previamente.

Esquema 3, Etapa E

El compuesto unido a resina, 2d, donde R^1 es $(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{Dde})$ se mezcla con un disolvente adecuado, tal como DMF, y se sacude con porciones sucesivas de una solución al 2% de hidrato de hidrazina en DMF a lo largo de aproximadamente 30 min. La resina se filtra y se trata con un disolvente adecuado y un derivado anhídrido cíclico 3e, y una base tal como DMAP y piridina. Esta mezcla se sacude en N_2 durante la noche y se filtra para dar la amina unida a resina, 3f. Esta sustancia se identifica técnicas espectrales tras la escisión para dar el ácido libre 3f como se ha descrito previamente.

(Esquema pasa a página siguiente)

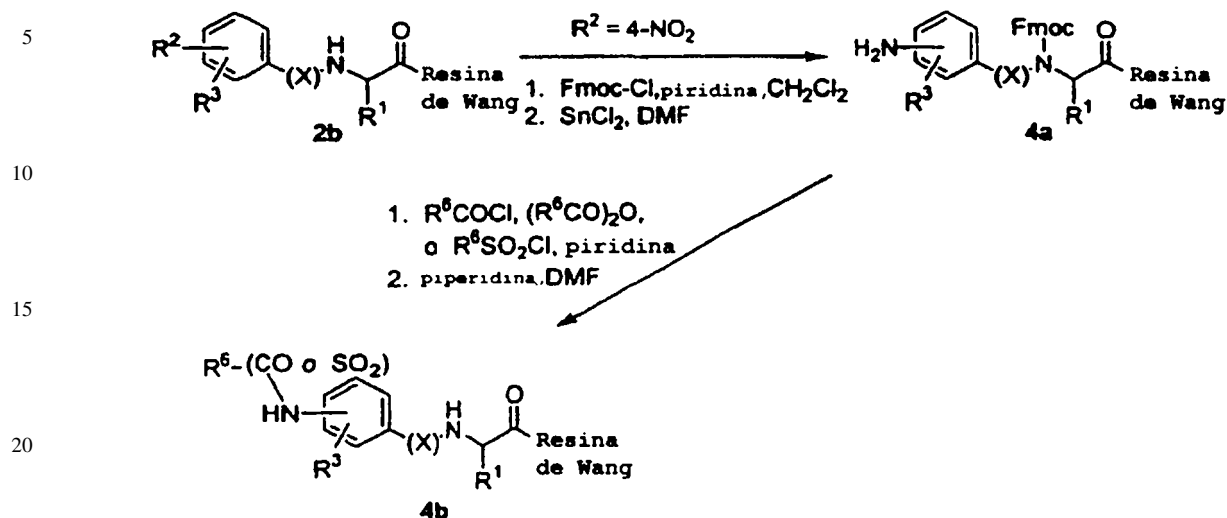
Esquema 3



Esquema 4, Etapa F

El compuesto unido a resina **2b**, donde R^2 es nitro se suspende en CH_2Cl_2 y se trata con una base orgánica, tal como piridina, y cloruro de 9-fluorenilmetoxi. Esta mezcla se sacude en N_2 durante la noche, se filtra y resuspende en un disolvente adecuado. Esta mezcla se trata con dihidrato de $SnCl_2$ en DMF y se sacude en N_2 durante la noche. El disolvente se elimina y la resina se lava porciones sucesivas de un disolvente adecuado y se filtra para dar el compuesto unido a resina **4a** donde R^2 es amino. La resina **4a** se suspende después en un disolvente adecuado, tal como CH_2Cl_2 , y se combina con 0,4 mmoles de piridina y 0,25-0,4 mmoles del anhídrido de ácido carboxílico apropiadamente sustituido, cloruro de ácido, o cloruro de sulfonilo. La mezcla se sacude en N_2 durante la noche, se filtra, y se lava sucesivamente cada vez con tres porciones de CH_2Cl_2 y MeOH. Esta resina se suspende en DMF, se filtra, y se sacude en N_2 con 5 mL de una solución al 40% de piperidina en DMF. Al cabo de 1 h, el disolvente se drena y la resina se lava sucesivamente cada vez con tres porciones de disolventes adecuados para dar el compuesto unido a resina **4b**. La identidad del compuesto se confirmó mediante análisis espectral tras la escisión como se ha descrito previamente.

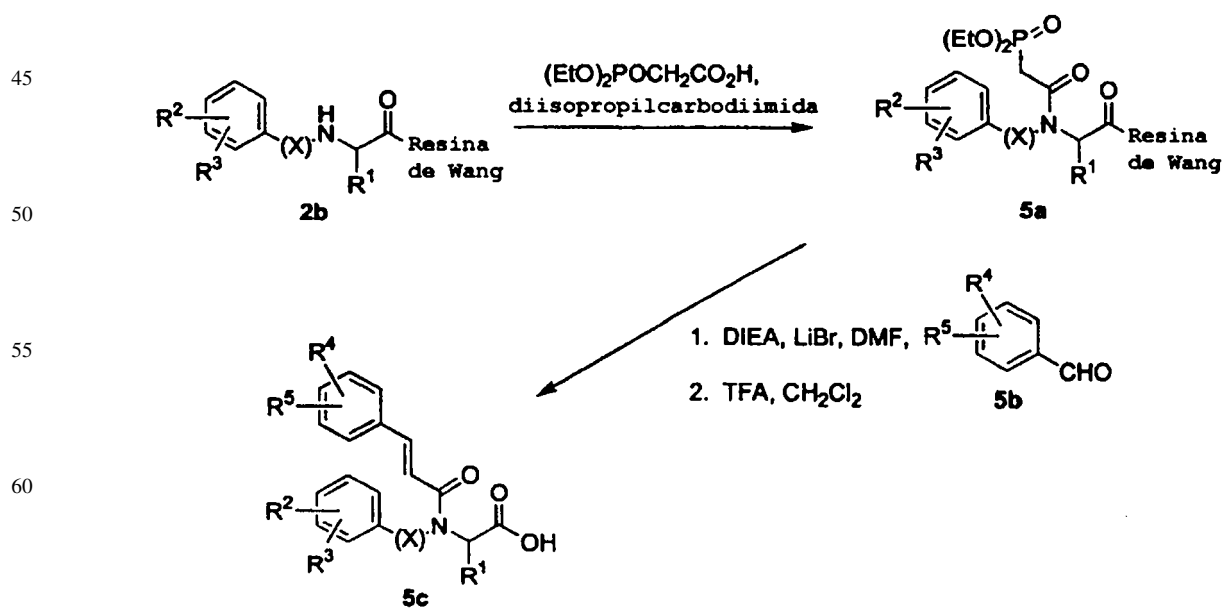
Esquema 4



Esquema 5

La resina 2b (0,2 mmoles) se suspende en CH_2Cl_2 , se filtra, y se resuspende en CH_2Cl_2 . Esta suspensión se trata con ácido dietilfosfonoacético y diisopropilcarbodiimida u otro reactivo de carbodiimida adecuado, y la mezcla se sacude en N_2 durante la noche. El disolvente se drena y la resina resultante 5a se lava sucesivamente cada vez con tres porciones de CH_2Cl_2 y MeOH. La resina se suspende en DMF y se filtra. Una solución del aldehído apropiadamente sustituido 5b (0,6-1,0 mmoles) en 3-5 mL de DMF, bromuro de litio (0,6-1,0 mmoles), y se añade una base adecuada tal como DIEA o Et_3N (0,6-1,0 mmoles) y la mezcla se sacude en N_2 durante la noche. El disolvente se elimina y la resina se lava sucesivamente cada vez con tres porciones de DMF, CH_2Cl_2 , y MeOH. La identidad del aminoácido sustituido unido a resina 5c se confirmó mediante técnicas espectrales. El material unido a la resina se puede tratar con TFA/ CH_2Cl_2 al 50% a lo largo de 1-1,5 h, para dar el ácido 5c.

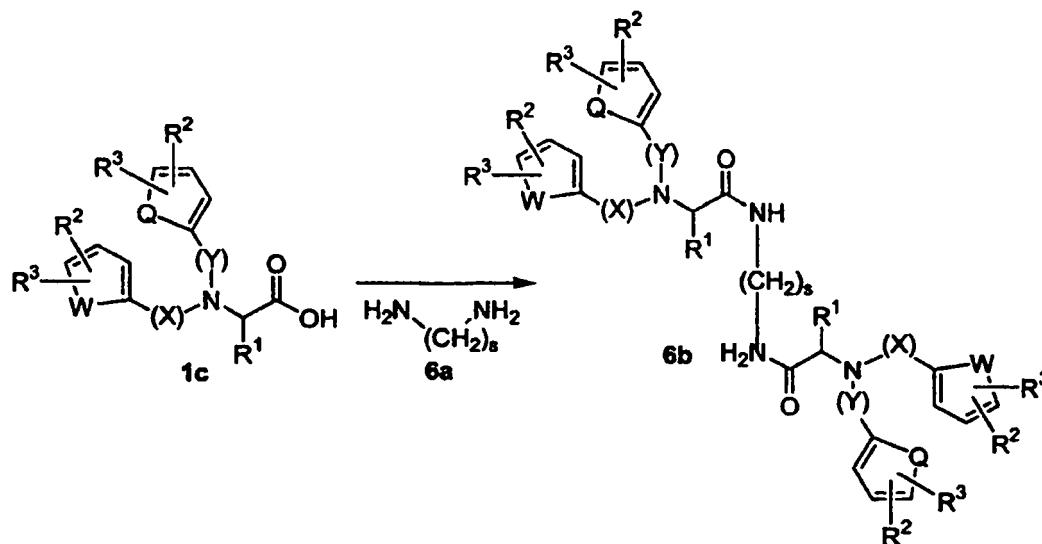
Esquema 5



Esquema 6

Para preparar compuestos donde n es 2 y Z es $\text{NH}(\text{CH}_2)_s\text{NH}$, se pueden utilizar los productos de los Esquemas 1-5 en el Esquema 6. El tratamiento de dos equivalentes del aminoácido sustituido 1c con un equivalente de la diamina 6a, en presencia de HOBT y un agente de acoplamiento peptídico tal como EDCI y una base tal como DIEA a temperatura ambiente a lo largo de 16 h produce el dímero 6b.

Esquema 6

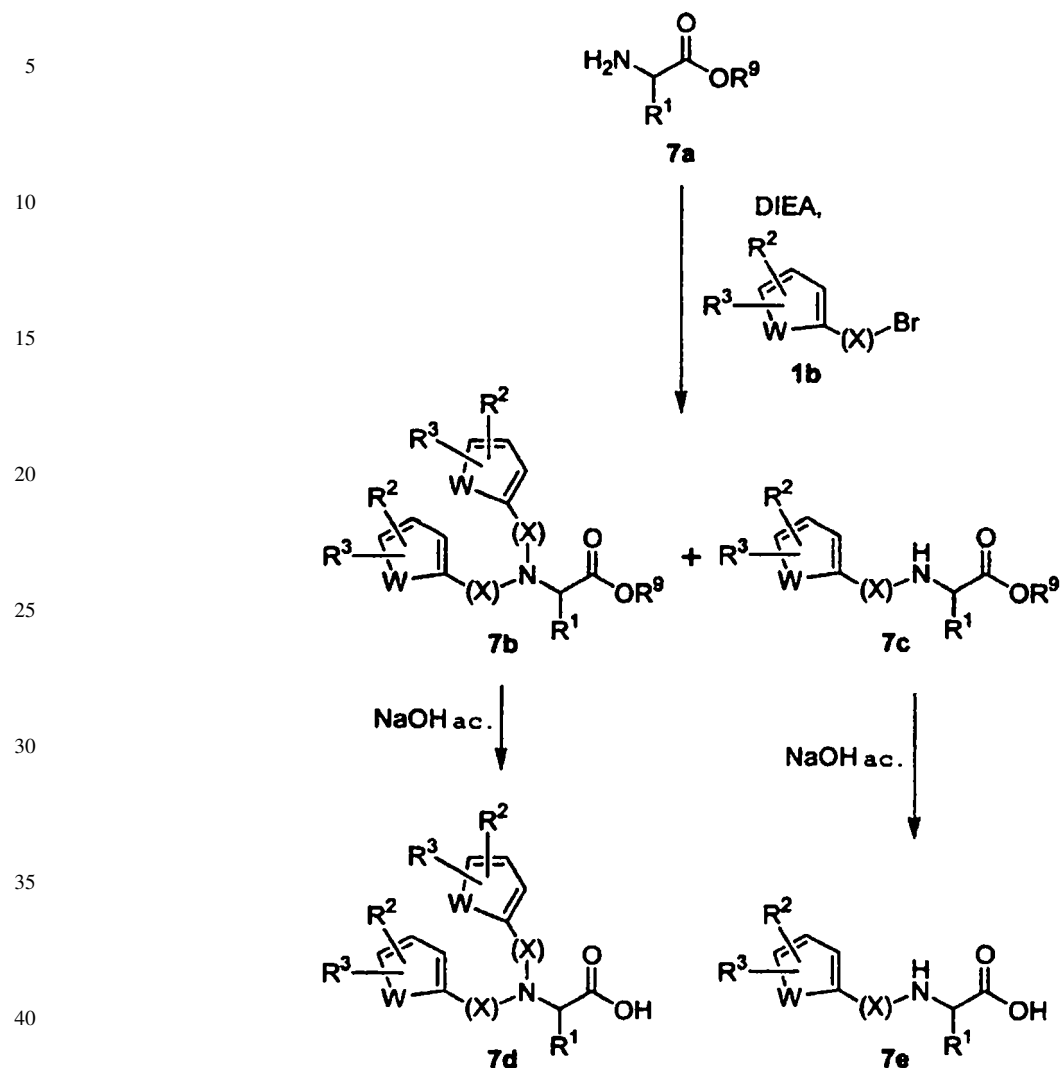
*Procedimiento General para la Síntesis en Fase de Solución de Aminoácidos N,N-Disustituidos Simétricos*

Esquema 7, Etapa A

Una solución del éster de aminoácido 7a, un derivado haluro sustituido apropiadamente 1b, y una base apropiada tal como DIEA, Na_2CO_3 , o Cs_2CO_3 en un disolvente adecuado, tal como DMF, se calienta a 50-100°C en N_2 durante la noche, o hasta que se agota la sustancia de partida, para dar una mezcla de las aminas di y mono-sustituidas, 7b y 7c respectivamente. Si las cadenas laterales de R^1 contienen grupos protectores de ácido escindibles, esos grupos se pueden escindir mediante tratamiento con $\text{TFA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ al 30-80%. Los ésteres 7b y 7c se pueden convertir independientemente en los ácidos correspondientes 7d y 7e mediante hidrólisis con una base apropiada tal como NaOH acuoso.

(Esquema pasa a página siguiente)

Esquema 7



Procedimiento General para la Síntesis en Fase de Solución de Aminoácidos N,N-Disustituídos Asimétricos

Esquema 8, Etapa A

Una solución de 1 mmol del éster de aminoácido 8a (o la sal de HCl correspondiente y 1,1 mmoles de DIEA) y 1-1,5 mmoles del aldehído apropiadamente sustituido 2a en 3-5 mL de ortoformiato de trimetilo se agitó a temperatura ambiente en N₂ durante la noche. La solución se concentró y utilizó directamente para la siguiente reacción, o se repartió entre EtOAc y agua, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar un producto bruto, que se purificó mediante MPLC para dar el producto mono-sustituído 8b.

Esquema 8, Etapa B

El aminoéster 8b se disolvió en DMF, se combinó con 1,1-1,5 mmoles del cloruro o bromuro apropiadamente sustituido 2c, y se calentó a 50-100°C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió y se repartió entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó tres veces con agua y una vez con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto bruto se purificó mediante MPLC para dar 8c puro. Para los ejemplos de 8c donde la cadena lateral R¹ contenía un grupo protector escindible con ácido tal como carbamato de t-butilo, éster t-butilico, o éter t-butilico, 8c se agitó en TFA/CH₂Cl₂ al 30-80% durante 1-3 h. La mezcla de reacción se concentró y se disolvió opcionalmente en HOAc y se liofilizó para dar la forma desprotegida de 8c. Para los ejemplos de 8c donde R⁹ era igual a t-butilo, 8c se agitó en TFA/CH₂Cl₂ al 30-80% durante 1-3 h y se trató como se ha descrito antes para dar el ácido 8d. Para los ejemplos de 8c donde R⁹ era igual a metilo, etilo, u otros ésteres alquílicos primarios o secundarios, 8c se agitó con 1-2 mmoles de LiOH, NaOH, o KOH acuoso en MeOH, EtOH, o THF a 20-80°C hasta que la TLC indicó la ausencia de 8c. La solución se aciduló a pH 4-5 con ácido cítrico acuoso o HCl y se extrajo con CH₂Cl₂ o EtOAc. La solución orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar 8d.

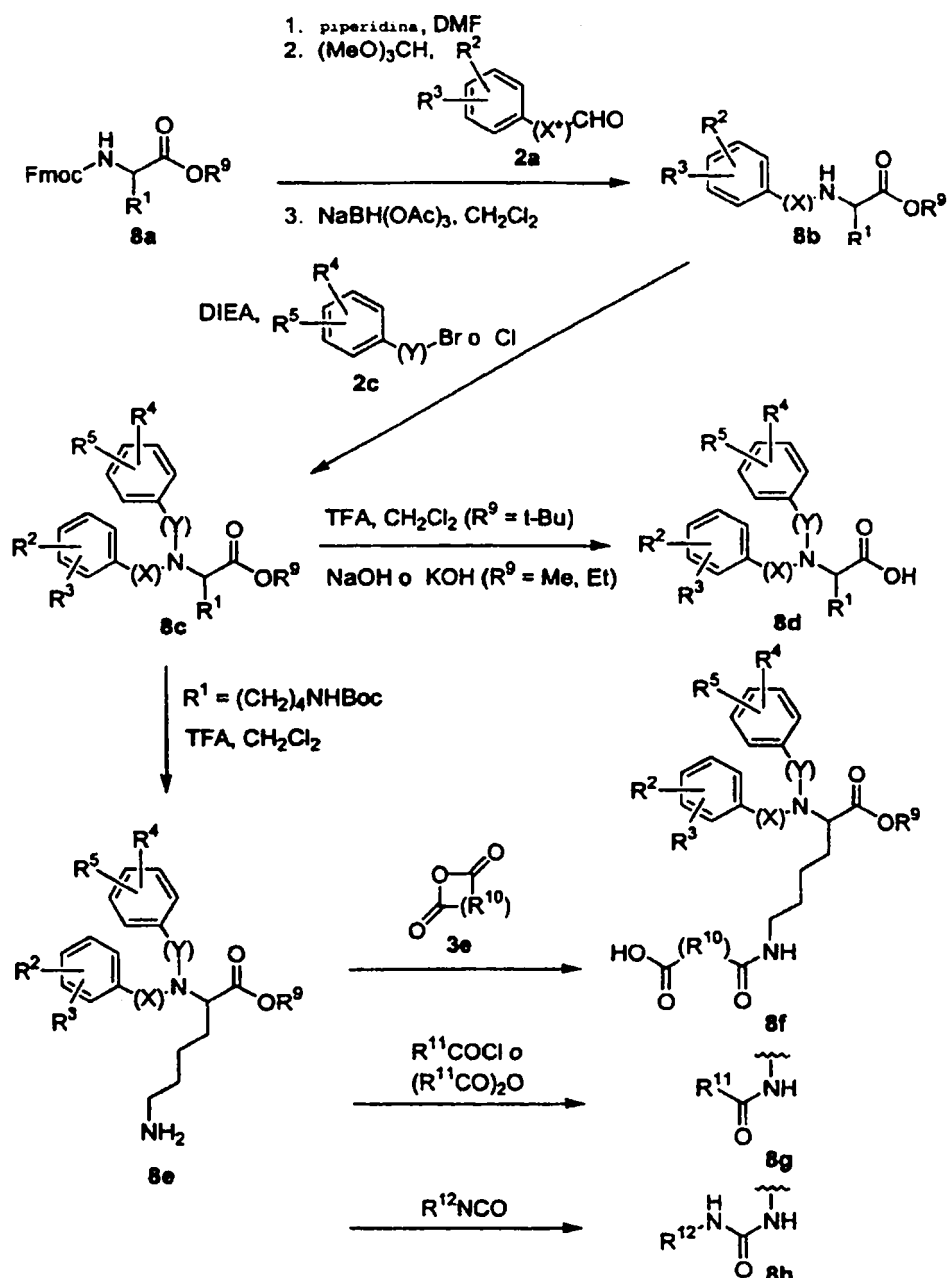
Esquema 8, Etapa C

Para los ejemplos del éster de aminoácido 8c donde $R^1 = (CH_2)_4NHBoc$, 8c (1 mmole) se agitó en TFA/ CH_2Cl_2 al 30-80% durante 1-3 h. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar 8e en forma de la sal de TFA. Opcionalmente, la sal de TFA se disolvió en CH_2Cl_2 o EtOAc y se lavó con NaOH o Na_2CO_3 acuoso, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para dar 8e en forma de la base libre.

Esquema 8, Etapa D

Una solución de 1 mmol de 8e, 1-4 mmole de una base apropiada tal como DIEA, y 1-2 mmole del anhídrido cíclico apropiadamente sustituido 3e se agitó en CH_2Cl_2 o DMF en N_2 durante la noche. La mezcla resultante se diluyó con CH_2Cl_2 o EtOAc y se lavó con HCl acuoso, agua, y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para proporcionar 8f. Alternativamente, 1 mmol de 8e, 1-4 mmole de una base apropiada tal como DIEA, y 1-2 mmole del anhídrido de ácido carboxílico apropiadamente sustituido ($R^{11}CO$)₂O o del cloruro de ácido $R^{11}COCl$ se agitaron en CH_2Cl_2 o DMF en N_2 durante la noche y se elaboraron como antes para proporcionar 8g. Alternativamente, 1 mmol de 8e, 1-4 mmole de una base apropiada tal como DIEA, y 1-2 mmole del isocianato apropiadamente sustituido $R^{12}NCO$ se agitó en CH_2Cl_2 o DMF en N_2 durante la noche y elaboró como antes para proporcionar 8h.

Esquema 8



Esquema 9, Etapa A

Para los ejemplos de 8c donde $R^5 = \text{NO}_2$, una solución de 1 mmol de 8c (donde R^2 , R^3 , R^4 , o) y 10-12 mmoles de dihidrato de SnCl_2 se agitó en MeOH, EtOH, o DMF a 20-80°C durante 0,5-24 h en N_2 . La solución se recogió a la temperatura ambiente y se vertió en Na_2CO_3 acuoso agitando rápidamente. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc o CH_2Cl_2 y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , y se concentraron para dar el producto aminofenílico 9a, que se purificó mediante MPLC o se utilizó sin purificación adicional.

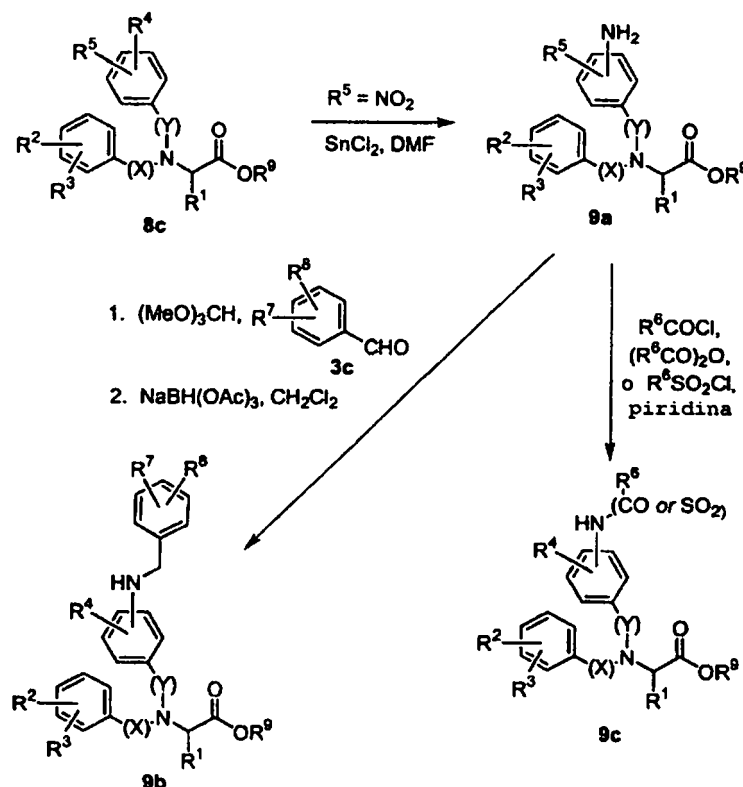
Esquema 9, Etapa B

Una solución de 1 mmol del compuesto aminofenílico 9a y 1-1,5 mmoles del aldehído apropiadamente sustituido 2a en 3-5 mL de ortoformiato de trimetilo se agitó a temperatura ambiente en N_2 durante la noche. La solución se concentró y utilizó directamente para la siguiente reacción, o se repartió entre EtOAc y agua, se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para dar un producto bruto, que se purificó mediante MPLC para dar 9b. Para los ejemplos de 9b donde la cadena lateral R^1 o R^9 contenía un grupo protector escindible con ácido tal como carbamato de t-butilo, éster t-butilico, o éter t-butilico, 9b se agitó en TFA/ CH_2Cl_2 al 30-80% durante 1-3 h. La mezcla de reacción se concentró y se disolvió opcionalmente en HOAc y se liofilizó para dar la forma desprotegida de 9b.

Esquema 9, Etapa C

Una solución de 1 mmol del compuesto 3-aminofenílico 9a, 1,1-2 mmoles de piridina, y 1-1,5 mmoles del cloruro de ácido, el anhídrido de ácido, o cloruro de sulfonilo apropiadamente sustituido en 3-5 mL de CH_2Cl_2 o $\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$ se agitó a temperatura ambiente en N_2 durante la noche. La solución se repartió entre EtOAc y agua, se lavó con agua, NaHCO_3 acuoso saturado, y salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para dar un producto bruto que se purificó opcionalmente mediante MPLC para dar la amida o sulfonamida 9c. Para los ejemplos de 9c donde la cadena lateral R^1 o R^9 contenía un grupo protector escindible con ácido tal como carbamato de t-butilo, éster t-butilico, o éter t-butilico, 9c se agitó en TFA/ CH_2Cl_2 30-80% durante 1-3 h. La mezcla de reacción se concentró y se disolvió opcionalmente en HOAc y se liofilizó para dar la forma desprotegida de 9c.

Esquema 9



ES 2 285 838 T3

Procedimiento General para la Síntesis en Fase de Solución de Aminoamidas N,N-Disustituídas Simétricas y sus Dímeros y Trímeros

Esquema 10, Etapa A

5 Una solución de 1 mmol del aminoácido protegido en N con Cbz 10a y la amina (ZH, 1 mmol), diamina (ZH₂, 0,5 mmoles), o triamina (ZH₃ 0,33 mmoles) apropiadas, se trató con 1,1 mmoles de HOBT, 1,1 mmoles de DIEA, y 2,1 mmoles de EDCI en 3-6 mL de CH₂Cl₂ o DMF. [Alternativamente, 1 mmol del éster pentafluorofenílico o del éster de N-hidroxisuccinimida de 10a se mezcló con la porción apropiada de la amina (ZH), diamina (ZH₂), o triamina (ZH₃) en 3-6 mL de DMF.] La solución se agitó a temperatura ambiente en N₂ durante 12-24 h, y se añadió EtOAc. La solución orgánica se lavó con ácido cítrico acuoso al 5%, agua, NaHCO₃ saturado, y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto bruto se purificó opcionalmente mediante MPLC para proporcionar la amida 10b. El compuesto 10b se agitó en TFA/CH₂Cl₂ al 30-80% durante 1-3 h. La mezcla de reacción se concentró para proporcionar la sal de TFA que se disolvió en CH₂Cl₂ o EtOAc y se lavó con NaOH acuoso o Na₂CO₃, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar 10c en forma de la base libre.

Esquema 10, Etapa B

20 Una solución de 1 mmol del éster de aminoácido 10c (n = 1), 2,5-3 mmoles del cloruro o bromuro apropiadamente sustituido 2c, y 2,5-3 mmoles de una base apropiada tal como DIEA, Na₂CO₃, o Cs₂CO₃ en 3-5 mL de DMF se calentó a 50-100°C en N₂ durante 18-24 h. (Para los ejemplos de 10c donde n = 2 o 3, las cantidades de 2c y de base se incrementaron en dos o tres veces, respectivamente.) La mezcla de reacción se enfrió y se repartió entre agua y EtOAc. La capa orgánica se lavó tres veces con agua y una vez con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto bruto se purificó mediante MPLC para dar la amida pura 10d.

30 Alternativamente, una solución de 1 mmol del éster de aminoácido 10c (n = 1), 2,5-3 mmoles del aldehído apropiadamente sustituido 2a, y 2,5-3 mmoles de complejo de borano-piridina en 3-5 mL de DMF o EtOH se agitó a temperatura ambiente en N₂ durante 3-5 días. (Para los ejemplos de 10c donde n = 2 o 3, las cantidades de 2c y de complejo de borano-piridina se incrementaron en dos o tres veces, respectivamente.) La mezcla se concentró hasta sequedad y se repartió entre agua y CH₂Cl₂, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró. El producto bruto se purificó mediante MPLC para dar la amida pura 10d.

35 Esquema 10, Etapa C

40 Para los ejemplos de 10d donde R¹ = CH₂CH₂CO₂-t-Bu o CH₂CO₂-t-Bu, 10d se agitó en TFA/CH₂Cl₂ 30-80% durante 1-24 h. La mezcla de reacción se concentró y se disolvió opcionalmente en HOAc y se liofilizó para dar el ácido 10e.

Esquema 10, Etapa D

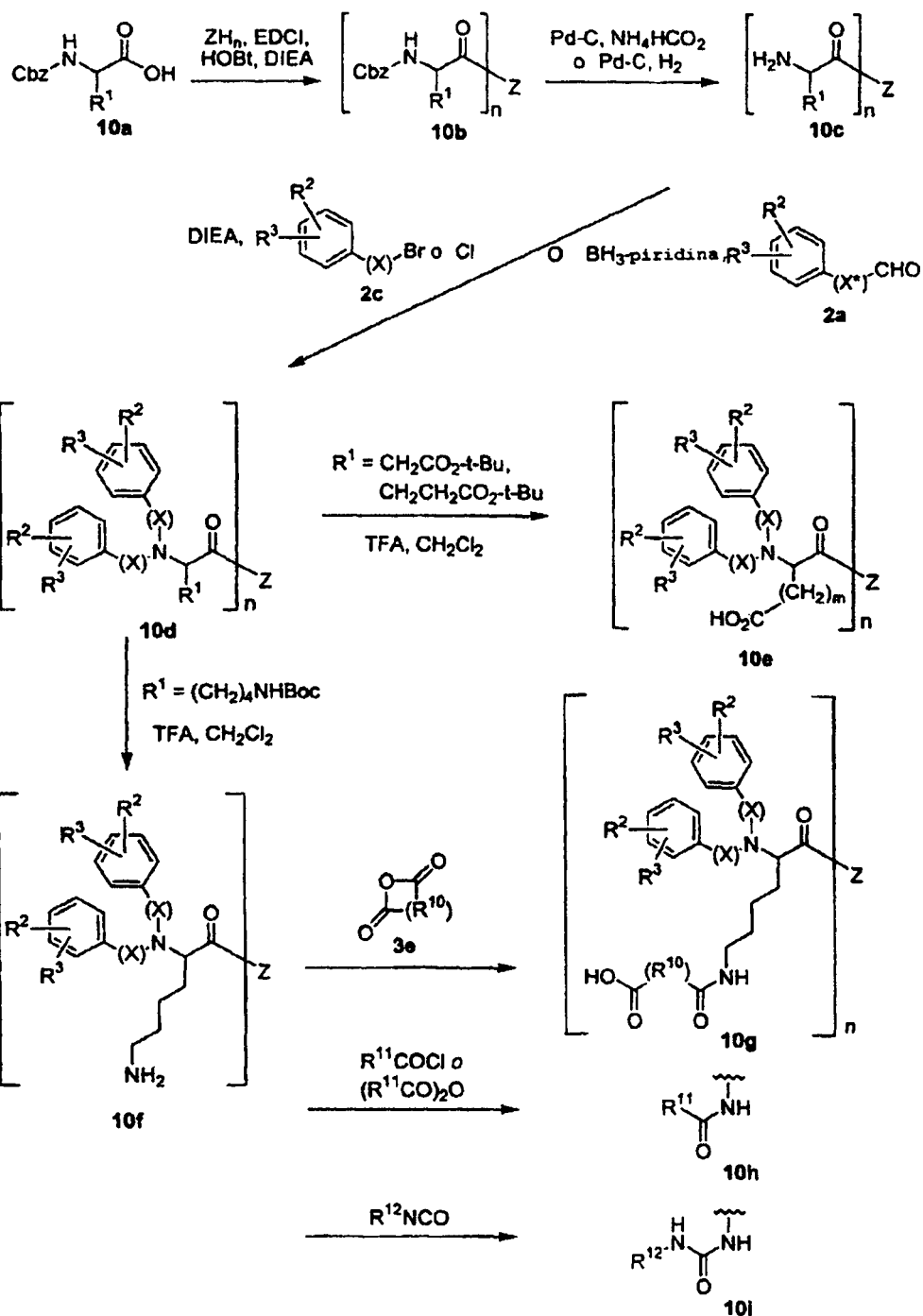
45 Para los ejemplos de 10d donde R¹ es igual a (CH₂)₄NHBoc, 10d se agitó en TFA/CH₂Cl₂ al 30-80% durante 1-24 h. La mezcla de reacción se concentró y se disolvió opcionalmente en HOAc y se liofilizó para dar la amina 10f en forma de la sal de TFA que se disolvió opcionalmente en CH₂Cl₂ o EtOAc, se lavó con NaOH acuoso o Na₂CO₃, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar 10f en forma de la base libre.

50 Esquema 10, Etapa E

55 Una solución de 1 mmol de 10f, 1-4 mmoles de una base apropiada tal como DIEA, y 1-2 mmoles del anhídrido cíclico apropiadamente sustituido 3e se agitó en CH₂Cl₂ o DMF en N₂ durante la noche. La mezcla resultante se diluyó con CH₂Cl₂ o EtOAc y se lavó con HCl acuoso, agua, y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para proporcionar el ácido 10g. Alternativamente, 1 mmol de 10f, 1-4 mmoles de una base apropiada tal como DIEA, y 1-2 mmoles del anhídrido de ácido carboxílico apropiadamente sustituido (R¹¹CO)₂O o del cloruro de ácido R¹¹COCl se agitó en CH₂Cl₂ o DMF en N₂ durante la noche y se elaboró como antes para proporcionar 10h. Alternativamente, 1 mmol de 8e, 1-4 mmoles de una base apropiada tal como DIEA, y 1-2 mmoles del isocianato apropiadamente sustituido R¹²NCO se agitó en CH₂Cl₂ o DMF en N₂ durante la noche y se elaboró como antes para proporcionar 10i.

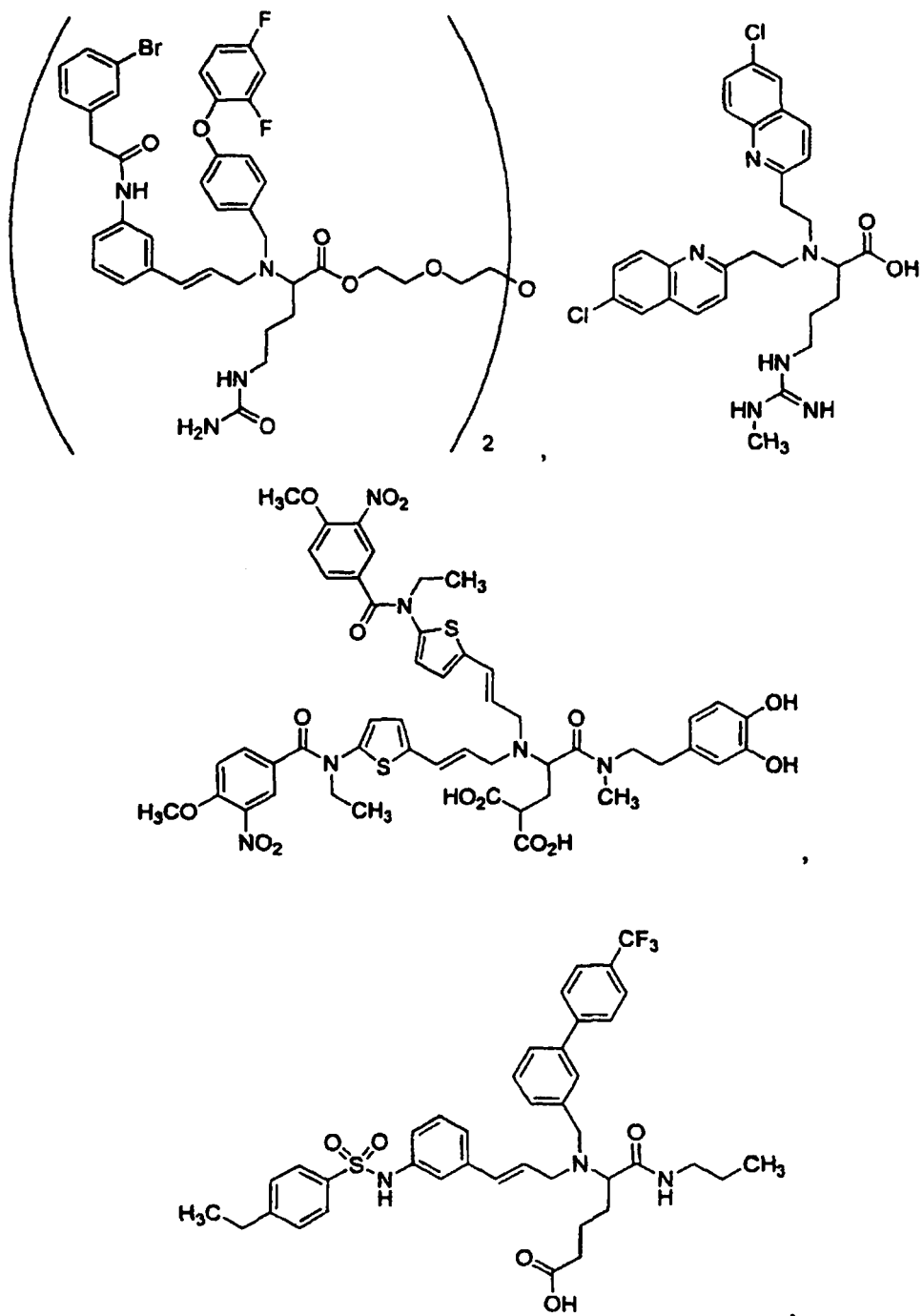
65

Esquema 10

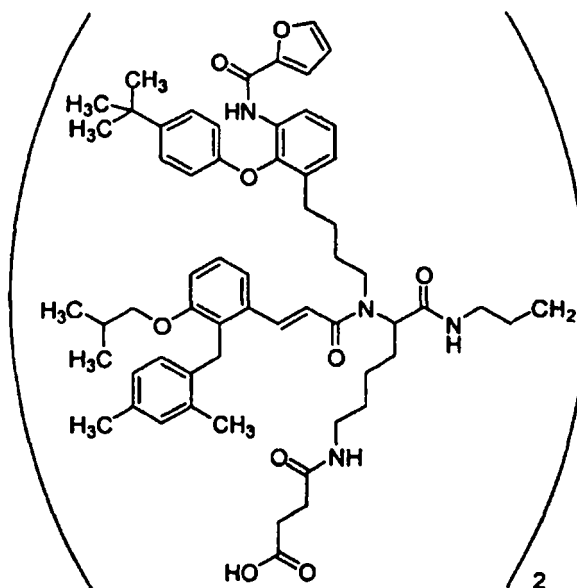


Si bien los compuestos reivindicados son útiles como compuestos de unión competitiva al receptor de EPO, algunos compuestos son más activos que otros y son o preferidos o particularmente preferidos.

Los compuestos preferidos de la invención incluyen:



y



Los “R¹” particularmente preferidos son la cadena lateral de lisina, ornitina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, cisteína, metionina, serina, y treonina.

Los “R² y R³” particularmente preferidos son fenoxi, fenoxi sustituido, benciloxi, y benciloxi sustituido.

Los “R⁴ y R⁵” particularmente preferidos con fenoxi, fenoxi sustituido, benciloxi, y benciloxi sustituido.

El “W” particularmente preferido es -CH=CH-

El “Q” particularmente preferido es -CH=CH-

Los “X” particularmente preferidos son alqueno C₁-C₅ y CH₂

Los “Y” particularmente preferido son alqueno C₁-C₅ y CH₂.

Los “n” particularmente preferidos son 1 y 2.

Los “Z” particularmente preferidos son hidroxilo, metoxi, fenetilamino, fenetilamino sustituido, y -NH(CH₂)₂O(CH₂)₂O(CH₂)₂NH-.

Las composiciones farmacéuticamente útiles que contienen los compuestos de la presente invención, se pueden formular según métodos conocidos, por ejemplo mezclando con un portador farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de tales portadores y métodos de formulación se pueden encontrar en Remington's Pharmaceutical Sciences. Para formar una composición farmacéuticamente aceptable para la administración efectiva, tales composiciones contendrán una cantidad efectiva del compuesto de la presente invención.

Las composiciones terapéuticas o diagnósticas de la invención se administran a un individuo en cantidades suficientes para tratar o diagnosticar trastornos en los que está indicada la modulación de la actividad relacionada con el receptor de EPO. La cantidad efectiva puede variar según una variedad de factores tales como el estado del individuo, el peso, el sexo y la edad. Otros factores incluyen el modo de administración. Las composiciones farmacéuticas pueden ser proporcionadas al individuo mediante una variedad de rutas tales como la subcutánea, tópica, transdérmica, oral y parenteral.

El término “derivado químico” describe una molécula que contiene radicales químicos adicionales que no son normalmente una parte de la molécula base. Tales radicales pueden mejorar la solubilidad, la vida media, la absorción, etc. de la molécula base. Alternativamente los radicales pueden atenuar los efectos secundarios no deseados de la molécula base o disminuir la toxicidad de la molécula base. Los ejemplos de tales radicales son descritos en una variedad de textos, tales como Remington's Pharmaceutical Sciences.

Los compuestos descritos aquí se pueden utilizar solos a dosis apropiadas definidas mediante ensayos rutinarios con el fin de obtener la inhibición óptima del receptor de EPO o su actividad a la vez que se minimiza cualquier toxicidad potencial. Además, puede ser deseable la administración simultánea o sucesiva de otros agentes.

La presente invención tiene también el objetivo de proporcionar formulaciones farmacéuticas tópicas, transdérmicas, orales, sistémicas y parenterales adecuadas para su uso en métodos de tratamiento novedosos. Las composiciones que contienen compuestos según esta invención como ingrediente activo para su uso en la modulación de los receptores de EPO se pueden administrar en una amplia variedad de formas de dosificación terapéuticas en vehículos convencionales para la administración. Por ejemplo, los compuestos o moduladores se pueden administrar en formas de dosificación oral tales como comprimidos, cápsulas (incluyendo cada una formulaciones de liberación controlada y de liberación sostenida), píldoras, polvos, gránulos, elixires, tintes, soluciones, suspensiones, jarabes y emulsiones, o mediante liberación o inyección transdérmica. Asimismo, también se pueden administrar en forma intravenosa (bolo e infusión), intraperitoneal, subcutánea, tópica con o sin oclusión, transdérmica, o intramuscular, todas formas en uso bien conocidas por los expertos normales en las técnicas farmacéutica. Los compuestos de la presente invención pueden ser liberados mediante una amplia variedad de mecanismos, incluyendo pero no limitados a, liberación transdérmica, o medios de inyección con aguja o sin aguja. Se puede emplear una cantidad efectiva pero no tóxica del compuesto deseado como agente modulador del receptor de EPO.

La dosis diaria de los productos puede variar a lo largo de un amplio intervalo de 0,01 a 1.000 mg por paciente, por día. Para la administración oral, las composiciones se proporcionar preferiblemente en forma de comprimidos ranurados o no ranurados que contienen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 15,0, 25,0, y 50,0 miligramos del ingrediente activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente que vaya a ser tratado. Normalmente se suministra una cantidad efectiva del fármaco a un nivel de dosificación de aproximadamente 0,0001 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día. El intervalo es más concretamente de aproximadamente 0,001 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal por día. Las dosificaciones de los moduladores del receptor de EPO se ajustan cuando se combinan para lograr los efectos deseados. Por otra parte, las dosificaciones de estos diferentes agentes pueden ser optimizadas y combinadas independientemente para lograr un resultado sinérgico donde la patología se reduce más de lo que lo haría si se utilizara cualquier agente solo.

Ventajosamente, los compuestos o moduladores de la presente invención se pueden administrar en una única dosis, o la dosificación diaria total se puede administrar en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día. Además, los compuestos o moduladores de la presente invención se pueden administrar en forma intranasal vía uso tópico de vehículos intranasales adecuados, o vía rutas transdérmicas, utilizando las formas de parches epidérmicos transdérmicos bien conocidas por los expertos normales en la técnica. Para administrarla en forma de un sistema de liberación transdérmico, la administración de la dosificación será, por supuesto, continua en lugar de intermitente a lo largo del régimen de dosificación.

Para el tratamiento combinado con más de un ingrediente activo, donde los agentes activos están en formulaciones de dosificación separada, los agentes activos se pueden administrar concurrentemente, o se pueden administrar cada uno en momentos separadamente escalonados.

El régimen de dosificación que utiliza los compuestos o moduladores de la presente invención se selecciona según una variedad de factores incluyendo el tipo, la especie, la edad, el peso, el sexo y la condición médica del paciente; la gravedad de la condición que se va a tratar; la ruta de administración; el funcionamiento renal y hepático del paciente; y su compuesto concreto empleado. Un médico o veterinario experto normal puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva del fármaco requerido, que contrarreste o detenga el progreso de la afección. La precisión óptima para lograr las concentraciones de fármaco en el intervalo que produzca eficacia sin toxicidad requiere un régimen basado en las cinéticas de disponibilidad del fármaco hacia los sitios diana. Esto implica una consideración de distribución, equilibrio, y eliminación de un fármaco.

En los métodos de tratamiento, los compuestos o moduladores descritos en detalle en la presente memoria pueden formar el ingrediente activo, y se administran típicamente mezclados con diluyentes, excipientes o portadores farmacéuticos adecuados (referidos colectivamente en la presente memoria como materiales "portadores") seleccionados adecuadamente con respecto a la forma deseada de administración, esto es, comprimidos orales, cápsulas, elixires, jarabes y similares, y compatibles con prácticas farmacéuticas convencionales.

Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente activo del fármaco se puede combinar con un portador inerte farmacéuticamente aceptable, no tóxico tal como etanol, glicerol, agua y similares. Por otra parte, cuando se desea o es necesario, también se pueden incorporar a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen, sin limitación, almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como acacia, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes utilizados en estas formas de dosificación incluyen, sin limitación, oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares.

Para las formas líquidas el componente activo del fármaco se puede combinar en agentes suspensores o dispersantes adecuadamente aromatizados tales como las gomas sintéticas y naturales, por ejemplo, tragacanto, acacia, metilcelulosa y similares. Otros agentes dispersantes que se pueden emplear incluyen glicerina y similares. Para la administración parenteral, se desean suspensiones y soluciones estériles. Las preparaciones isotónicas que contienen generalmente conservantes adecuados se emplean cuando se desea la administración intravenosa.

Las preparaciones tópicas que contienen el componente activo del fármaco se pueden mezclar con una variedad de sustancias portadoras bien conocidas en la técnica, tales como, p. ej., alcoholes, gel de aloe vera, alantoína, glicerina, aceites con vitamina A y E, aceite mineral, propionato de miristilo PPG2, y similares, para formar, p. ej., soluciones alcohólicas, limpiadores tópicos, cremas limpiadoras, geles para la piel, lociones para la piel, y champús en crema o formulaciones en gel.

Los compuestos o moduladores de la presente invención también se pueden administrar en forma de sistemas de liberación de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los compuestos de la presente invención también se pueden liberar mediante el uso de anticuerpos monoclonales como portadores individuales a los que se acoplan las moléculas de compuesto. Los compuestos o moduladores de la presente invención se pueden acoplar también a polímeros solubles en forma de portadores de fármacos dirigibles. Tales polímeros pueden incluir polivinil-pirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropil-metacrilamidofenol, polihidroxietil-aspartamidofenol, o polietilenoxidopolilisina substituida con restos palmitoilo. Además, los compuestos o moduladores de la presente invención se pueden acoplar a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidro-piranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloques entrecruzados o anfipáticos de hidrogeles, y otros polímeros adecuados conocidos por los expertos en la técnica.

Para la administración oral, los compuestos o moduladores se pueden administrar en forma de cápsula, comprimido, o bolo o alternativamente se pueden mezclar en el alimento para animales. Las cápsulas, comprimidos, y bolos comprenden el ingrediente activo combinado con un vehículo portador apropiado tal como almidón, talco, estearato de magnesio, fosfato dicálcico. Estas formas de dosificación unitarias se preparan mezclando íntimamente el ingrediente activo con ingredientes inertes en polvo fino adecuados incluyendo diluyentes, cargas, agentes disgregantes, y/o aglutinantes de manera que se obtiene una mezcla uniforme. Un ingrediente inerte es uno que no reacciona con los compuestos o moduladores y que no es tóxico para el animal que está siendo tratado. Los ingredientes inertes adecuados incluyen almidón, lactosa, talco, estearato de magnesio, gomas y aceites vegetales, y similares. Estas formulaciones pueden contener una cantidad muy variable de los ingredientes activos e inactivos dependiendo de numerosos factores tales como el tamaño y el tipo de especie animal que se va a tratar y el tipo y la gravedad de la infección. El ingrediente activo también se puede administrar en forma de aditivo para el alimento mezclando simplemente el compuesto con el pienso o aplicando el compuesto a la superficie del alimento. Alternativamente el ingrediente activo se puede mezclar con un portador inerte y la composición resultante se puede mezclar después con el alimento o dar de comer al animal. Los portadores inertes adecuados incluyen harina de maíz, harina de cítricos, restos de fermentación, cascajos de soja, cereales secos y similares. Los ingredientes activos se mezclan íntimamente con estos portadores inertes triturando, agitando, moliendo, o revolviendo de manera que la composición final contiene de 0,001 a 5% en peso del ingrediente activo.

Los compuestos o moduladores se pueden administrar alternativamente parenteralmente vía inyección de una formulación que consiste en el ingrediente activo disuelto en un portador líquido inerte. La inyección puede ser intramuscular, intrarruminal, intratraqueal, o subcutánea, por medio de aguja o sin aguja. La formulación inyectable consiste en el ingrediente activo mezclado con un portador líquido inerte apropiado. Los portadores líquidos aceptables incluyen aceites vegetales tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo y similares así como disolventes orgánicos tales como Solketal, glicerol formal y similares. Como alternativa, también se pueden utilizar formulaciones parenterales acuosas. Los aceites vegetales son los portadores líquidos preferidos. Las formulaciones se preparan disolviendo o suspendiendo el ingrediente activo en el portador líquido de manera que la formulación final contenga de 0,005 a 10% en peso del ingrediente activo.

La aplicación tópica de los compuestos o moduladores es posible a través del uso de una poción líquida o un champú que contiene los presentes compuestos o moduladores en forma de solución o suspensión. Estas formulaciones contienen generalmente un agente suspensor tal como bentonita y normalmente contendrán también un agente antiespumante. Son aceptables las formulaciones que contienen de 0,005 a 10% en peso del ingrediente activo. Las formulaciones preferidas son aquellas que contienen de 0,01 a 5% en peso de los presentes compuestos o moduladores.

Los compuestos de Fórmula I se pueden utilizar en composiciones farmacéuticas para tratar pacientes (humanos y otros mamíferos) con trastornos o condiciones asociadas con la producción de eritropoyetina o moduladas por el receptor de EPO. Los compuestos se pueden administrar en la manera del producto asequible comercialmente o mediante cualquier ruta oral o parenteral (incluyendo pero no limitadas a, intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutánea, parche dérmico), donde la ruta preferida es mediante inyectable. Cuando el método de administración es la infusión intravenosa, el compuesto de Fórmula I se puede administrar a un intervalo de dosificación de aproximadamente 0,01 a 1 mg/kg/min. Para la administración oral, el intervalo de dosificación es aproximadamente de 0,1 a 100 mg/kg.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar utilizando excipientes farmacéuticos convencionales y técnicas de composición. Se pueden utilizar las formas de dosificación oral y son elixires, jarabes, cápsulas, comprimidos

y similares. Cuando el portador sólido típico es una sustancia inerte tal como lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, fosfato dicálcico, manitol y similares; y los excipientes orales líquidos típicos incluyen etanol, glicerol, agua y similares. Todos los excipientes se pueden mezclar según se necesite con disgregantes, diluyentes, agentes granuladores, lubricantes, aglutinantes y similares utilizando mecanismos convencionales conocidos por los expertos en la técnica de preparación de las formas de dosificación. Las formas de dosificación parenterales se pueden preparar utilizando agua u otro portador estéril.

Típicamente los compuestos de Fórmula I se aíslan en forma de la base libre, no obstante cuando es posible se pueden preparar sales farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de tales sales incluyen bromhídrico, yodhídrico, clorhídrico, perclórico, sulfúrico, maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, benzoico, mandélico, metanosulfónico, hidroetanosulfónico, bencenosulfónico, oxálico, pamoico, 2-naftalenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclohexanosulfámico y sacárico.

Con el fin de ilustrar la invención se incluyen los siguientes ejemplos. Estos ejemplos no limitan la invención. Sólo pretenden sugerir un método para poner en práctica la invención. Los entendidos en síntesis química y en el tratamiento de los trastornos relacionados con la EPO pueden encontrar otros métodos para poner en práctica la invención. No obstante se cree que esos métodos están dentro del alcance de esta invención.

20 Ejemplos biológicos

Los compuestos de la invención se evaluaron en cuanto a la capacidad para competir con la EPO en la siguiente preparación de receptor de EPO inmovilizado (EBP-Ig, proteína Ig de unión a EPO).

La proteína de fusión EBP-Ig (como se describe en WO97/27219) se purificó mediante cromatografía de afinidad a partir de medio acondicionado de células NSO diseñadas para expresar un constructo génico recombinante que acopla funcionalmente los 225 aminoácidos N-terminales del receptor de EPO humano y una cadena pesada de Ig como se describe en la presente memoria. La interacción de la biotina y la estreptavidina se emplea frecuentemente para capturar e inmovilizar eficazmente los reactivos útiles en protocolos de análisis y ha sido utilizada en la presente memoria como un método sencillo para capturar e inmovilizar EBP-Ig. EBP-Ig se modifica al azar inicialmente con un derivado amina reactivo de biotina para producir EBP-Ig biotinilada. El uso de placas recubiertas de estreptavidina permite la captura de la EBP-Ig biotinilada sobre la superficie de un pocillo recubierto impregnado centelleante (Flash plates, NEN-DuPont). Tras la unión de EPO[I^{125}] al dominio de unión al ligando, se satisfacen los requerimientos de distancia específica y se induce el centelleante para emitir luz en respuesta a la energía emitida por el radioligando. El radioligando no unido no produce una señal medible puesto que la energía de la decadencia radiactiva está muy distante del centelleante. La cantidad de luz producida se cuantificó para estimar la cantidad de unión al ligando. El formato de análisis específico fue adecuado para la capacidad de las placas multi-pocillo de un contador Packard TopCount Microplate Scintillation. Se identificaron los compuestos que fueron capaces de reducir la cantidad de señal detectada a través de la unión competitiva con el radioligando.

La EBP-Ig biotinilada se preparó como sigue. La EBP-Ig (3 mL, DO_{280} 2,9) se cambió a bicarbonato de sodio 50 mM, pH 8,5 utilizando un dispositivo de ultrafiltración Centriprep 10. El volumen final de la proteína cambiada fue de 1,2 mL (DO_{280} 2,6, representando aproximadamente 2 mg de proteína total). Se añadieron 10 L de una solución de 4 mg/ml de NHS-LC-Biotina (Pierce) y la mezcla de reacción se colocó sobre hielo en la oscuridad durante 2 horas. La biotina que no había reaccionado se eliminó cambiando el tampón de reacción a PBS en un dispositivo Centriprep 10 y se tomaron alícuotas del reactivo proteico y se almacenaron a -70°C .

Cada pocillo de unión individual (200 L) contenía concentraciones finales de 1 g/mL de EBP-Ig biotinilada, 0,5 nM de EPO[I^{125}] (NEN Research Products, Boston, 100 Ci/g) y 0-500 M de compuesto de ensayo (de una provisión 10-50 mM en DMSO al 100%). Todos los pocillos se ajustaron a una concentración final del 5%. Todos los puntos del análisis se realizaron por triplicado y con cada experimento se realizó una curva normalizada para la EPO no marcada a una concentración final de 2000, 62, 15, 8, 4, y 0 nM. Después de realizar todas las adiciones, la placa se recubrió con un precinto adherente en la parte superior y se colocó en la oscuridad a temperatura ambiente durante la noche. El día siguiente se aspiró todo el líquido de los pocillos para limitar la extinción de la señal dependiente del analito, y las placas se contaron en un Packard TOPCOUNT Microplate Scintillation Counter. La unión no específica (NSB) se calculó como las CPM medias de los pocillos con EPO 2000 nM y la unión total (TB) como la media de los pocillos sin añadir EPO no marcada. La unión total corregida (CTB) se calculó como: $TB - NSB = CTB$. La concentración de compuesto de ensayo que redujo la CTB al 50% fue referida como CI_{50} . Típicamente el valor de CI_{50} para la EPO no marcada fue aprox. 2-7 nM y EMP1 fue 0,1 M. En la Tabla 1 se enumera el % medio de inhibición, y los valores de CI_{50} y CI_{30} para los compuestos de Fórmula I si se determinan, donde los números de compuestos hacen referencia a los compuestos de las tablas que acompañan a los ejemplos de preparación.

ES 2 285 838 T3

Inhibición de la unión de EPO a EBP-Ig

TABLA 1

comp	% inh @ 50 M	ci30, M*	ci50, M*
11	70	nd	nd
12	59	nd	nd
14	30	nd	nd
15	48	nd	nd
77	52	30	40
82	32	nd	nd
86	37	nd	nd
100	34	nd	nd
101	32	nd	nd
104	78	10	30
105	70	25	35
107	78	30	42
108	81	23	36
110	54	6	10
112	59	2	10
114	37	10	nd
115	35	nd	nd
116	32	nd	nd
117	34	nd	nd
118	36	2	10

ES 2 285 838 T3

	comp	% inh @ 50 M	ci30, M*	ci50, M*
5	119	34	nd	nd
	120	35	nd	nd
10	121	45	6	nd
	137	60	5	30
15	139	46	2	10
	178	36	nd	nd
20	179	30	nd	nd
	183	36	nd	nd
	184	53	10	nd
25	203	37	50	nd
	211	62	20	65
30	220	45	30	50
	221	48	10	80
35	222	56	5	nd
	224	51	25	50
40	227	48	20	50
	230	42	nd	nd
45	231	36	nd	nd
	235	49	20	50
50	237	55	30	70
	238	39	nd	nd
55	239	46	8	50
	243	75	2	18
60	244	66	1	28
	246	79	10	75

65

ES 2 285 838 T3

	comp	% inh @ 50 M	ci30, M*	ci50, M*
5	247	47	7	18
	248	56	7	20
10	249	72	7	10
	250	78	7	20
15	251	49	10	45
	261	51	1, 5	2
	262	93	1	1, 5
20	263	88	1	1, 5
	264	89	1, 5	8
25	265	65	1	6
	266	82	1	4
30	267	83	2	6
	268	40	nd	nd
35	269	55	8	85
	270	56	7	100
40	271	77	2	7
	272	78	5	10
45	285	41	nd	nd
	286	46	35	65
50	287	36	nd	nd
	*nd = no determinado			

Ejemplos de preparación

A no ser que se indique de otro modo, las sustancias utilizadas en los ejemplos se obtuvieron de proveedores comerciales y se utilizaron sin purificación adicional. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Thomas Hoover y están sin corregir. Los espectros de resonancia magnética de protón (RMN H^1) se midieron en el disolvente indicado con tetrametilsilano (TMS) como patrón interno utilizando un espectrómetro de RMN Bruker AC-300. Los desplazamientos químicos del RMN se expresan en parte por millón (ppm) campo bajo del TMS interno utilizando la escala δ . Los datos de RMN H^1 se tabulan por orden: multiplicidad, (s, singlete; d, doblete; t, triplete; q, cuartete; m, multiplete), número de protones, constante de acoplamiento en Hertzios). Los espectros de masa (MS) de Electropulverización (ES) se determinaron en un Hewlett Packard Series 1090 LCMS Engine. Los análisis elementales fueron realizados por Quantitative Technologies, Inc. (QTI), PO Box 470, Salem Industrial Park, Bldg #5, Whitehouse, NJ 08888-0470. La cromatografía en capa fina analítica (TLC) se realizó con placas Merck Silica Gel 60 F_{254} (250 micras). La cromatografía líquida de media presión (MPLC) se realizó con Merck Silica Gel 60 (malla 230-400).

ES 2 285 838 T3

Ejemplo 1

N,N-bis(3-Fenoxicinamil)Glu(*O*-*t*-Bu)-OMe y *N*-(3-fenoxicinamil)Glu(*O*-*t*-Bu)-OMe

- 5 Una solución de 500 mg (1,97 mmoles) de H-Glu(*O*-*t*-Bu)OMe·HCl, 997 mg (3,45 mmoles) de bromuro de 3-fenoxicinamilo (Jackson, W. P.; Islip, P. J.; Kneen, G.; Pugh, A.; Wates, P. J. *J. Med. Chem.* **31** 1988; 499-500), y 0,89 mL (5,1 mmol, 660 mg) de DIEA en 5 mL de DMF se agitó en N₂ a temperatura ambiente durante 40 h. La mezcla se repartió entre EtOAc y agua y la capa orgánica se lavó con agua y salmuera. Después de secar sobre Na₂SO₄, la solución orgánica se concentró para dar 1,24 g de un aceite de color naranja. El residuo bruto se purificó mediante
- 10 MPLC utilizando un gradiente de disolvente que oscilaba de 10-30% de EtOAc/hexanos para dar dos productos. El producto menos polar (235 mg, 19% basándose en el aminoácido de partida), comp. 96, se aisló en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,39 (s, 9H), 2,0 (m, 2H), 2,33 (dt, 2H, J = 2, 7 Hz), 3,24 (dd, 2H, J = 8, 15 Hz), 3,5 (m, 3H), 3,69 (s, 3H), 6,13 (m, 2H), 6,47 (d, 2H, J = 16 Hz), 6,86 (dd, 2H, J = 1,5, 8 Hz), 7,0-7,4 (complejo, 16H); MS (ES+) m/z 634 (MH+). El producto más polar (422 mg, 50% basándose en el aminoácido de partida), *N*-(3-fenoxicinamil)Glu(*O*-*t*-Bu)-OMe, se aisló en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN H1
- 15 (CDCl₃, 300 MHz) 1,42 (s, 9H), 1,9 (m, 2H), 2,35 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 3,2-3,4 (complejo, 3H), 3,71 (s, 3H), 6,17 (dt, 1H, J = 16, 6 Hz), 6,46 (d, 1H, J = 16 Hz), 6,87 (dd, 1H, J = 1,5, 8 Hz), 7,01 (m, 3H), 7,10 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 7,2-7,4 (complejo, 3H); MS (ES+) m/z 426 (MH+). Anal. Calcd para C₂₅H₃₁NO₅: C, 70,57; H, 7,34; N, 3,29. Encontrado: C, 70,29; H, 7,14; N, 3,08.
- 20

Ejemplo 2

N-(3-Fenoxicinamil)Glu-OMe

- 25 Una solución de 95 mg (0,22 mmoles) de *N*-(3-fenoxicinamil)Glu(*O*-*t*-Bu)-OMe en 3 mL de TFA/CH₂Cl₂ al 50% se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en ácido acético y se liofilizó para dar 117 mg de *N*-(3-fenoxicinamil)Glu-OMe en forma de un sólido de color blanquecino; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 2,3-2,7 (complejo, 4H), 3,78 (s, 3H), 3,81 (d, 2H, J = 7 Hz), 4,09 (t, 1H, J = 5 Hz), 6,17 (dt, 1H, J = 16, 7 Hz), 6,55 (d, 1H, J = 16 Hz), 6,9 (m, 4H), 7,11 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 7,3 (m, 4H); MS (ES+) m/z 370 (MH+),
- 30 209. Anal. Calcd para C₂₁H₂₃NO₅·C₂HF₃O₂: C, 57,14; H, 5,00; N, 2,90. Encontrado: C, 57,07; H, 5,02; N, 2,73.

Ejemplo 3

N,N-bis(3-Fenoxicinamil)Asp(*O*-*t*-Bu)-*O*-*t*-Bu

- 35 comp. 106

- Una solución de 1,00 g (3,55 mmoles) de Asp(*O*-*t*-Bu)-*O*-*t*-Bu·HCl, 2,05 g (7,1 mmoles) de bromuro de 3-fenoxicinamilo, y 1,86 mL (10,7 mmol, 1,38 g) de DIEA en 15 mL de DMF se calentó en N₂ a 60°C durante la noche. Se añadieron bromuro de 3-fenoxicinamilo (1,0 g, 3,4 mmoles) y DIEA (0,95 mL, 0,705 g, 5,4 mmoles) adicionales y se continuó calentando durante 14 h adicionales. La mezcla se enfrió y se repartió entre EtOAc y agua. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, una vez con salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄. La solución se concentró para dar 3,5 g de un aceite de color ámbar que se purificó mediante MPLC utilizando un gradiente de disolvente que oscilaba de 2,5-3% de EtOAc/hexanos para proporcionar 1,21 g del comp. 106 en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN
- 40 H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,41 (s, 9H), 1,48 (s, 9H), 2,49 (dd, 1H, J = 7,5, 15,5 Hz), 2,70 (dd, 1H, J = 7,5, 15,5 Hz), 3,26 (dd, 2H, J = 7,5, 14,5 Hz), 3,47 (dd, 2H, J = 4, 14,5 Hz), 3,88 (t, 1H, J = 7,5), 6,13 (m, 2H), 6,48 (d, 2H, J = 16 Hz), 6,86 (dd, 2H, J = 2, 8 Hz), 7,0 (m, 6H), 7,1 (m, 4H), 7,2-7,4 (complejo, 6H); MS (ES+) m/z 662 (MH+).
- 45

Ejemplo 4

- 50 *N,N*-bis(3-Fenoxicinamil)Asp-OH

comp. 107

- 55 Una solución de 1,14 g (1,62 mmoles) del comp. 106 en 16 mL de TFA/CH₂Cl₂ al 50% se agitó a temperatura ambiente durante 24 h. La solución se concentró y se bombeó para dar 1,37 g (~100%) comp. 107 en forma de un aceite de color ámbar; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 3,1 (m, 2H), 4,0 (dd, 2H, J = 8, 14 Hz), 4,27 (dd, 2H, J = 8, 16 Hz), 4,70 (t, 1H, J = 4 Hz), 6,38 (2H, dt, J = 16, 8 Hz), 6,7-7,4 (complejo, 20H); MS (ES-) m/z 562 ([M-H]+).

Ejemplo 5

N,N-bis(4-Benciloxibencil)Lys(Boc)-OMe (comp. 111) y *N*-(4-Benciloxibencil)Lys(Boc)-OMe

- Una solución de 594 mg (2,0 mmoles) de Lys(Boc)-OMe·HCl, 524 mg (2,25 mmoles) de cloruro de 4-benciloxibencil, 75 mg (0,5 mmoles), de NaI, y 0,61 mL (3,5 mol, 452 mg) de DIEA se templó a 50-70°C en N₂ durante la noche. La mezcla se enfrió y se repartió entre EtOAc y agua. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, una vez con salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄. La solución orgánica se concentró para dar 0,83 g de un aceite de color ámbar que se purificó mediante MPLC utilizando un gradiente de disolvente que oscilaba de 15-40% de EtOAc/hexanos para
- 65

ES 2 285 838 T3

dar dos productos. El producto menos polar (296 mg), comp. 111, se aisló en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,28 (m, 4H), 1,43 (s, 9H), 1,70 (m, 2H), 3,03 (m, 2H), 3,28 (t, 1H, J = 7 Hz), 3,40 (d, 2H, J = 13,5 Hz), 3,74 (s, 3H), 3,81 (d, 2H, J = 13,5 Hz), 5,05 (2, 4H), 6,92 (d, 4H, J = 8,5), 7,23 (d, 4H, J = 8,5), 7,25-7,5 (complejo, 10H); MS (ES+) m/z 653 (MH+). El producto más polar (406 mg), N-(4-Benciloxibencil) Lys(Boc)-OMe, se aisló en forma de un sólido de color blanco; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,4 (s, 4H), 1,43 (s, 9H), 1,65 (m, 3H), 3,08 (m, 2H), 3,23 (t, 1H, J = 6,5 Hz), 3,54 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 3,71 (s, 3H), 3,73 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 5,05 (s, 2H), 6,92 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,23 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,25-7,5 (complejo, 5H); MS (ES+) m/z 457 (MH+).

Ejemplo 6

N-(4-Benciloxibencil)-N-(3-nitrobencil)Lys(Boc)-OMe

comp. 113

Una solución de 374 mg (0,82 mmoles) de N-(4-Benciloxibencil)Lys(Boc)-OMe, 221 mg (1,03 mmoles) de bromuro de 4-nitrobencilo, y 197 L (1,13 mmol, 146 mg) de DIEA se templó a 50-70°C durante 4 h, después a 40-50°C durante la noche. Tras la adición de 0,2 mL de HCl acuoso 1N, la mezcla se repartió entre EtOAc y agua. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, una vez con salmuera, y se secó sobre Na₂SO₄. La solución orgánica se concentró para dar 610 mg de un aceite de color ámbar que se purificó mediante MPLC 1:3 EtOAc/hexanos para proporcionar 436 mg (90%) comp. 113 en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,35 (m, 4H), 1,42 (s, 9H), 1,75 (q ancho, 2H, J = 8 Hz), 3,06 (q ancho, 2H, J = 6 Hz), 3,28 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 3,48 (d, 1H, J = 13,5 Hz), 3,66 (d, 1H, J = 14,5 Hz), 3,76 (s, 3H), 3,79 (d, 1H, J = 13,5 Hz), 3,97 (d, 1H, J = 14,5 Hz), 4,47 (s ancho, 1H), 5,05 (s, 2H), 6,93 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,22 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,3-7,5 (complejo, 6H), 7,65 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 8,09 (d, 1H, J = 8 Hz), 8,22 (s, 1H); MS (ES+) m/z 592 (MH+).

Ejemplo 7

N-(3-Aminobencil)-N-(4-benciloxibencil)Lys(Boc)-OMe

Una solución de 361 mg (0,61 mmoles) del comp. 113 y 835 mg (3,7 mmoles) de dihidrato de SnCl₂ se agitó en N₂ a temperatura ambiente durante 6 h. La mezcla ligeramente turbia se vertió en 200 mL de Na₂CO₃ acuoso al 5% agitando rápidamente. La suspensión lechosa resultante se extrajo con tres porciones de 75 mL de CH₂Cl₂ y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. Los extractos se concentraron para dar 344 mg de un aceite incoloro que se purificó mediante MPLC utilizando EtOAc/hexanos 1:2 para proporcionar 291 mg de N-(3-aminobencil)-N-(4-benciloxibencil)Lys(Boc)-OMe en forma de un aceite de color amarillo; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,25 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 1,70 (m, 2H), 3,31 (dd, 1H, J = 6, 9 Hz), 3,38 (d, 1H, J = 14 Hz), 3,40 (d, 1H, J = 13,5 Hz), 3,74 (s, 3H), 3,81 (d, 1H, J = 14 Hz), 3,83 (d, 1H, J = 13,5 Hz), 4,52 (s ancho, 1H), 5,05 (s, 2H), 6,50 (d ancho, 1H, J = 8 Hz), 6,70 (m, 2H), 6,92 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,08 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 7,2-7,5 (complejo, 7H); MS (ES+) m/z 562 (base, MH+), 506.

Ejemplo 8

N-(4-Benciloxibencil)-N-(3-((2-furancarboxil)amino)bencil)Lys-Ome

comp. 117

Una solución de 42 mg (0,075 mmoles) de N-(3-aminobencil)-N-(4-benciloxibencil)Lys(Boc)-OMe y 12 L (12 mg, 0,15 mmoles) de piridina en 0,5 mL de 1,2-dicloroetano se combinó con 8,1 L (11 mg, 0,083 mmoles) y se agitó en N₂ durante la noche. Se añadió EtOAc (3 mL) y la solución se lavó dos veces con 2 mL de agua y 2 mL de NaHCO₃ acuoso saturado. La solución de EtOAc se filtró a través de un lecho de Na₂SO₄ y se concentró para dar 44 mg de N-(4-benciloxibencil)-N-(3-((2-furancarboxil)amino)bencil)Lys(Boc)-OMe; MS (ES+) m/z 356 (MH+). El intermedio protegido con Boc se agitó en 2 mL de TFA/CH₂Cl₂ al 50% durante 2 h y se concentró y se bombeó a alto vacío para proporcionar 66 mg del comp. 117 en forma de la sal de bis-TFA; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 1,55 (m, 2H), 1,65 (m, 2H), 2,10 (m, 2H), 2,93 (t, 2H, J = 7 Hz), 3,68 (t, 1H, J = 7 Hz), 3,78 (s, 3H), 4,20 (m, 4H), 5,09 (s, 2H), 6,66 (dd, 1H, J = 1,5, 3,5 Hz), 7,03 (d, 2H, J = 8,5 Hz), 7,1-7,6 (complejo, 11H), 7,76 (m, H), 8,07 (m, 1H); MS (ES+) m/z 556 (base, MH+), 360, 197.

Ejemplo 9

N,N-bis(3-Nitrobencil)Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu

comp. 62

Una solución de 0,50 mg (1,77 mmoles) de Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu-HCl, 1,17 g (5,42 mmoles) de bromuro de 3-nitrobencilo, y 1,25 mL (0,93 g, 7,2 mmoles) de DIEA en 6 mL de DMF se agitó a temperatura ambiente en N₂ durante 24 h y se calentó a 70-80°C durante la noche. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y agua y la capa orgánica se lavó dos veces con agua y una vez con salmuera. Después de secar sobre Na₂SO₄, la solución orgánica se concentró para dar 0,86 g de un aceite de color amarillo que se purificó mediante MPLC utilizando EtOAc/hexanos

ES 2 285 838 T3

1:9 para proporcionar 0,849 g (93%) comp. 62 en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,43 (s, 9H), 1,57 (s, 9H), 2,59 (dd, 1H, J = 7,5, 16 Hz), 2,76 (dd, 1H, J = 7, 16 Hz), 3,72 (t, 1H, J = 7,5 Hz), 3,78 (d, 2H, J = 14 Hz), 3,92 (d, 2H, J = 14 Hz), 7,47 (t, 2H, J = 8 Hz), 7,67 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 8,09 (d ancho, 2H J = 8 Hz), 8,16 (s ancho, 2H); MS (ES+) m/z 538 (MNa+), 516 (base, MH+), 460, 404, 237.

5

Ejemplo 10

N,N-bis(3-Aminobencil)Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu

10 Una solución de 0,644 g (1,25 mmoles) del comp. 62 y 2,82 g (12,5 mmoles) de SnCl₂·2 H₂O en 12 mL de EtOH absoluto se sometió a reflujo durante 1,5 h. La mezcla se enfrió y se vertió en 300 mL de Na₂CO₃ acuoso al 5% agitando rápidamente. La mezcla turbia se extrajo con tres porciones de 150 mL de CH₂Cl₂ y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. La solución de CH₂Cl₂ se concentró para proporcionar 210 mg (37%) de *N,N*-bis(3-aminobencil)Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu en forma de un aceite de color amarillo turbio que se utilizó sin purificación; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,40 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 2,48 (dd, 1H, J = 7, 16 Hz), 2,76 (dd, 1H, J = 8, 16 Hz), 3,48 (d, 2H, J = 14 Hz), 3,55 (m, 1H), 3,73 (d, 2H, J = 14 Hz), 6,56 (d ancho, 2H J = 8 Hz), 6,70 (s ancho, 2H), 6,77 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 7,08 (t, 2H, J = 8 Hz); MS (ES+) m/z 478 (MNa+), 456 (base, MH+), 400, 344.

15

Ejemplo 11

20

N,N-bis(3-(4-Metilbenzoil)aminobencil)Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu

A una solución de 109 mg (0,24 mmoles) de *N,N*-bis(3-aminobencil)Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu, 29 mg (0,24 mmoles) de DMAP, 125 L (93 mg, 0,72 mmoles) de DIEA en 1 mL de CH₂Cl₂ se le añadieron 95 L (111 mg, 0,72 mmoles) de cloruro de 4-metilbenzoilo. La solución se agitó en N₂ durante la noche y después se repartió entre EtOAc y agua. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar 177 mg de aceite de color amarillo. La sustancia bruta se purificó mediante MPLC utilizando un gradiente de disolvente que oscilaba de 20-25% de EtOAc/hexanos para proporcionar 87 mg de *N,N*-bis(3-(4-metilbenzoil)aminobencil)Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,36 (s, 9H), 1,55 (s, 9H), 2,35 (s, 6H), 2,53 (dd, 1H, J = 6, 16 Hz), 2,76 (dd, 1H, J = 9, 16 Hz), 3,69 (d, 2H, J = 14), 3,77 (dd, 1H, J = 6, 9 Hz), 3,83 (d, 2H, J = 14), 7,01 (m, 6H), 7,26 (t, 2H, J = 8 Hz), 7,59 (m, 6H), 8,11 (s, 2H), 8,49 (s, 2H); MS (ES+) m/z 714 (MNa+), 692 (base, MH+), 636, 580.

30

Ejemplo 12

35

N,N-bis(3-(4-Metilbenzoil)aminobencil)Asp-OH

comp. 64

40 Una solución de 87 mg (0,13 mmoles) de *N,N*-bis(3-(4-metilbenzoil)aminobencil)Asp(O-t-Bu)-O-t-Bu en 1 mL de TFA/CH₂Cl₂ al 50% se agitó durante la noche. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en HOAc y se liofilizó para proporcionar 77 mg del comp. 64 en forma de un sólido de color blanco; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 2,40 (s, 6H), 2,85 (dd, 1H, J = 6, 16,5 Hz), 2,98 (dd, 1H, J = 8, 16,5 Hz), 4,02 (d, 2H, J = 13,5 Hz), 4,08 (d, 4H, J = 13,5 Hz), 4,10 (t, 1H, J = 6,5 Hz), 7,22 (m, 6H), 7,34 (t, 2H, J = 7,5 Hz), 7,60 (d ancho, 2H, J = 9 Hz), 7,76 (d, 4H, J = 8 Hz), 7,88 (s ancho, 2H); MS (ES+) m/z 580 (base, MH+).

45

Ejemplo 13

[*N*-Cbz-Glu(O-t-Bu)-NHCH₂CH₂OCH₂]₂

50

A una solución de 1,69 g (5,0 mmoles) de *N*-Cbz-Glu(O-t-Bu)-OH, 0,365 mL (0,371 g, 2,5 mmoles) de 1,8-diamino-3,6-dioxaoctano, 0,743 g (5,5 mmoles) de HOBT, y 1,05 mL (0,776 g, 6,0 mmoles) de DIEA en 15 mL de CH₂Cl₂ se le añadieron 1,05 g (5,5 mmoles) de EDCI en una porción. Después de agitar a temperatura ambiente en N₂ durante la noche, la mezcla se repartió entre EtOAc y ácido cítrico acuoso al 10%. La capa orgánica se lavó con agua, NaHCO₃ saturado, y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar 1,87 g de (*N*-Cbz-Glu(O-t-Bu)-NHCH₂CH₂OCH₂)₂ en forma de un aceite incoloro; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 1,43 (s, 18H), 1,85 (m, 2H), 2,05 (m, 2H), 2,31 (t, 4H, J = 8 Hz), 3,37 (t, 4H, J = 5 Hz), 3,52 (t, 4H, J = 5 Hz), 3,58 (s, 4H), 4,15 (m, 2H), 5,09 (dd, 4H, J = 12, 16 Hz), 7,30 (m, 10H); MS (ES+) m/z 809 (base, MNa+), 787 (MH+).

55

Ejemplo 14

[*Glu*(O-t-Bu)-NHCH₂CH₂OCH₂]₂

65 Se añadieron formiato de amonio (0,78 g, 12,4 mmoles) y 0,16 g de paladio sobre carbono al 10% a una solución de (*N*-Cbz-Glu(O-t-Bu)-NHCH₂CH₂OCH₂)₂ en 12 mL de MeOH y la suspensión resultante se agitó en N₂ a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ y se filtró a través de un lecho de Celite. Los sólidos se lavaron cuidadosamente con CH₂Cl₂ y los productos filtrados orgánicos combinados se concentraron hasta sequedad. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ y NaHCO₃ acuoso saturado, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se

ES 2 285 838 T3

concentró para dar 1,13 g de $(\text{Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$ en forma de un aceite incoloro; 1,44 (s, 18H), 1,81 (m, 2H), 2,08 (m, 2H), 2,35 (m, 4H), 3,39 (dd, 2H, J = 5, 7,5 Hz), 3,47 (t, 4H, J = 5 Hz), 3,58 (t, 4H, J = 5 Hz), 7,53 (m, 2H).

Ejemplo 15

$[N,N\text{-bis}(4\text{-Benciloxibencil})\text{Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$

comp. 245

Una solución de 199 mg (0,384 mmoles) de $[\text{Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$, 403 mg (1,73 mmoles) de cloruro de 4-benciloxibencilo, 30 mg (0,2 mmoles) de NaI, y 334 L (248 mg, 1,92 mmoles) de DIEA se agitó en N_2 a temperatura ambiente durante varios días. La solución se repartió entre EtOAc y agua y la capa orgánica se lavó tres veces con agua y una vez con salmuera. Después de secar sobre Na_2SO_4 , la solución se concentró para dar 528 mg de aceite de color amarillo que se purificó mediante MPLC utilizando un gradiente de disolvente que oscilaba de 42-50% de EtOAc/hexanos para proporcionar 318 mg (64%) del comp. 245 en forma de una espuma de color blanco; RMN H1 (CDCl_3 , 300 MHz) 1,42 (s, 18H), 2,01 (m, 4H), 2,38 (m, 2H), 2,55 (m, 2H), 3,03 (dd, 2H, J = 5, 8 Hz), 3,31 (m, 2H), 3,4-3,6 (complejo, 18H), 4,99 (s, 8H), 6,89 (d, 8H, J = 8,5), 7,1-7,4 (complejo, 30H).

Ejemplo 16

$[N,N\text{-bis}(4\text{-Benciloxibencil})\text{GluNHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$

comp. 246

Una solución de 219 mg (0,168 mmoles) del comp. 245 en 2 mL de TFA/ CH_2Cl_2 al 33% se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se concentró para dar a un producto bruto que se disolvió en HOAc y se liofilizó para proporcionar 251 mg del comp. 246 en forma de un aceite de color ámbar; RMN H1 (CD_3OD , 300 MHz) 2,1-2,6 (complejo, 8H), 3,3-3,6 (complejo, 8H), 3,57 (s, 4H), 3,78 (m, 2H), 4,25 (d ancho, 4H, J = 14 Hz), 4,36 (d ancho, 4H, J = 14 Hz), 5,09 (s, 8H), 7,03 (d, 8H, J = 8 Hz), 7,3-7,5 (complejo, 28H); MS (ES+) m/z 1192 (MH+), 995, 596, 197 (base).

Ejemplo 17

$[N\text{-(3-Fenoxibencil)}\text{Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$

Una solución de 680 mg (0,76 mmoles) de $[\text{Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$ y 278 L (317 mg, 1,6 mmoles) de 3-fenoxibenzaldehído en 3 mL de TMOF se agitó durante la noche a temperatura ambiente en N_2 . La mezcla se concentró y se bombeó a alto vacío para dar a un aceite incoloro que se disolvió en 3 mL de CH_2Cl_2 y se trató con 678 mg (3,2 mmoles) de $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$. Después de agitar en N_2 durante 2 días, se añadieron 50 mL de NaHCO_3 acuoso saturado y la mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 . Las capas orgánicas se combinaron, se secaron sobre Na_2SO_4 , y se concentraron y el producto bruto (1,01 g) se purificó mediante MPLC utilizando un gradiente de disolvente que oscilaba de 2-4% de MeOH/ CH_2Cl_2 para proporcionar 490 mg de $[N\text{-(3-fenoxibencil)}\text{Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$ en forma de un aceite incoloro; RMN H1 (CDCl_3 , 300 MHz) 1,41 (s, 18H), 1,89 (m, 4H), 2,31 (m, 4H), 3,12 (t, 2H, J = 6 Hz), 3,45 (m, 8H), 3,55 (s, 4H), 3,60 (d, 2H, J = 13,5 Hz), 3,73 (d, 2H, J = 13,5 Hz), 6,86 (dd, 2H, J = 1,5, 8 Hz), 7,00 (m, 8H), 7,2-7,4 (complejo, 8H); MS (ES+) m/z 883 (MH+), 589,442,414,386 (base), 183.

Ejemplo 18

$[N\text{-(3-Nitrobencil)}\text{-N-(3-fenoxibencil)}\text{-Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$

Se combinaron DIEA (269 L, 199 mg, 1,54 mmoles), bromuro de 3-nitrobencilo (322 mg, 1,49 mmoles), y $[N\text{-(3-fenoxibencil)}\text{Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$ (482 mg, 0,546 mmoles) en 2 mL de DMF y se calentaron a 60-70°C en N_2 durante 2 días. La mezcla de reacción se enfrió y se repartió entre 100 mL de EtOAc y agua. La capa orgánica se lavó tres veces con agua y una vez con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 , y se concentró para dar 661 mg (~100%) de $[N\text{-(3-nitrobencil)}\text{-N-(3-fenoxibencil)}\text{-Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$ que se utilizó sin purificación; MS (ES+) m/z 1154 (MH+), 577, 130 (base).

Ejemplo 19

$[N\text{-(3-Aminobencil)}\text{-N-(3-fenoxibencil)}\text{-Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$

Una solución de 661 mg (0,54 mmoles) de $[N\text{-(3-nitrobencil)}\text{-N-(3-fenoxibencil)}\text{-Glu}(\text{O}-t\text{-Bu})\text{-NHCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_2)_2$ bruto y 2,71 g (12,0 mmoles) de $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ en 20 mL de EtOH absoluto se sometió a reflujo en N_2

ES 2 285 838 T3

durante 30 min. La solución refrigerada se vertió en 500 mL de Na₂CO₃ acuoso al 2,5% agitando rápidamente y la mezcla turbia resultante se extrajo completamente con EtOAc. Los extractos orgánicos ligeramente turbios se lavaron dos veces con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron para dar 604 mg de aceite de color amarillo que se purificó mediante MPLC utilizando MeOH/CH₂Cl₂ al 3% para proporcionar 350 mg (59%) de [N-(3-aminobencil)-N-(3-fenoxibencil)-Glu(O-t-Bu)-NHCH₂CH₂OCH₂]₂ en forma de un aceite de color amarillo pálido; RMN H1 (CDCl₃, 300 MHz) 1,41 (s, 18H), 1,97 (m, 4H), 2,25 (m, 4H), 2,48 (m, 4H), 3,03 (dd, 2H, J = 5, 8 Hz), 3,30 (m, 2H), 3,4-3,8 (complejo, 24H), 6,47 (d, 2H, J = 7,5 Hz), 6,65 (m, 4H), 6,85 (d, 2H, J = 9,5 Hz), 6,9-7,15 (complejo, 12H), 7,2-7,4 (complejo, 8H); MS (ES+) m/z 1094 (MH+), 547 (base).

Ejemplo 20

[N-(3-Fenoxibencil)-N-(3-(pentanoilamino)bencil)-Glu-NHCH₂CH₂OCH₂]₂

comp. 247

Se añadió gota a gota cloruro de pentanoilo (16 µL, 16 mg, 0,136 mmoles) a una solución de 68 mg (0,062 mmoles) de [N-(3-aminobencil)-N-(3-fenoxibencil)-Glu(O-t-Bu)-NHCH₂CH₂OCH₂]₂, 20 L (20 mg, 0,25 mmoles) de piridina en 0,3 mL de 1,2-dicloroetano. La mezcla se sacudió en N₂ durante la noche y después se repartió entre EtOAc y agua. La capa orgánica se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró para dar 77 mg de [N-(3-fenoxibencil)-N-(3-(pentanoilamino)bencil)-Glu(O-t-Bu)-NHCH₂CH₂OCH₂]₂; MS (ES+) m/z 1073, 575 (base, MH+/2). El producto bruto se disolvió en 1 mL de 50% TFA/CH₂Cl₂ y se dejó estar durante la noche. La solución se concentró y el aceite resultante se disolvió en HOAc y se liofilizó para proporcionar 82 mg del comp. 247; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 3,98 (t, 6H, J = 7,5 Hz), 1,39 (sextete, 4H, J = 7,5 Hz), 1,66 (quintete, 4H, J = 7,5 Hz), 1,65 (m, 2H), 1,78 (m, 2H), 2,35 (t, 4H, J = 7,5 Hz), 2,45 (m, 4H), 3,38 (m, 4H), 3,50 (t, 2H, J = 5), 3,57 (m, 4H), 4,10 (s ancho, 8H), 6,9-7,25 (complejo, 14H), 7,25-7,4 (complejo, 10H), 7,71 (s, 2H); MS (ES+) m/z 1150 (MH+), 575 (base).

Ejemplo 21

[N-Cbz-Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N

Una solución de 1,0 g (2,63 mmoles) de N-Cbz-Lys(Boc)OH, 0,131 mL (0,128 g, 0,876 mmoles) de tris(2-aminoetil)amina, 0,391 g (2,98 mmoles) de HOBT, 0,555 g (2,89 mmoles) de EDCI, y 0,55 mL (0,408 g, 3,16 mmoles) de DIEA en 5 mL de CH₂Cl₂ se agitó en N₂ a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se diluyó con EtOAc y se lavó con ácido cítrico acuoso al 10%, NaHCO₃ acuoso saturado, y salmuera. La solución se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para dar 0,872 g de [N-Cbz-Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N en forma de un sólido de color blanquecino; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 135 (m, 12H), 1,40 (s, 27H), 1,60 (m, 3H), 1,72 (m, 3H), 2,51 (m, 6H), 2,99 (m, 6H), 3,10 (m, 3H), 3,21 (m, 3H), 4,12 (m, 3H), 5,00 (d, 3H, J = 12,5 Hz), 5,08 (d, 3H, J = 12,5 Hz), 7,29 (m, 15H); MS (ES+) m/z 1243 (base, MH+), 567, 467.

Ejemplo 22

[Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N

Una solución de 0,841 g (0,682 mmoles) [N-Cbz-Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N, 0,252 g de Pd-C al 10%, y 0,774 g (12,3 mmoles) de formiato de amonio en 10 mL de MeOH se agitó durante 5 h a temperatura ambiente en N₂. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite, los sólidos se lavaron con CH₂Cl₂, y la solución resultante se concentró hasta sequedad. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ y salmuera; la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar 0,191 g de [Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N en forma de un sólido de color blanquecino; RMN H1 (CD₃OD, 300 MHz) 1,40 (s, 27H), 1,45 (m, 12H), 1,75 (m, 6H), 2,62 (m, 6H), 3,01 (m, 6H), 3,28 (m, 6H), 3,64 (m, 3H); MS (ES+) m/z 853 (MNa+), 831 (MH+), 266 (base).

Ejemplo 23

[N,N-bis(3-Fenoxibencil)Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N

Una solución de 65 mg (0,078 mmoles) de [Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N, 120 L (140 mg, 0,70 mmoles) de 3-fenoxibenzaldehído, y 71 L (65 mg, 0,70 mmoles) de complejo de borano-piridina en 3 mL de EtOH absoluto se agitó durante 4 días a temperatura ambiente en N₂. La mezcla se concentró hasta sequedad y se repartió entre agua y CH₂Cl₂. La capa orgánica se concentró para dar un aceite de color amarillo que se purificó mediante MPLC utilizando MeOH/CH₂Cl₂ al 2,5% para dar 78 mg de [N,N-bis(3-fenoxibencil)Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N en forma de un aceite de color amarillo; MS (ES+) m/z 872 (base, [M-Cl₁₃H₁₂O]/2+), 611, 443.

ES 2 285 838 T3

Ejemplo 24

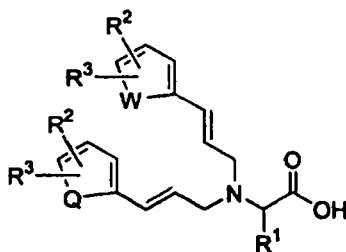
[N,N-bis(3-Fenoxibencil)Lys-NHCH₂CH₂]₃N

5 comp. 277

Una solución de 78 mg (0,048 mmoles) de [N,N-bis(3-fenoxibencil)Lys(Boc)-NHCH₂CH₂]₃N en 2 mL de TFA/CH₂Cl₂ al 50% se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con CH₂Cl₂, se lavó con agua y Na₂CO₃ al 5%, y se concentró para dar 57 mg del comp. 277 en forma de una espuma de color blanquecino; RMN H¹ (CD₃OD, 300 MHz) 1,35 (m, 6H), 1,52 (m, 6H), 1,76 (m, 6H), 2,75 (m, 6H), 3,19 (m, 6H), 3,40 (m, 6H), 3,60 (m, 9H), 3,77 (m, 6H), 6,79 (d, 6H, J = 8 Hz), 6,93 (m, 24H), 7,05 (m, 6H), 7,19 (m, 6H), 7,29 (m, 12H); MS (ES⁺) m/z 813 ([MH₂/2]⁺), 721, 542 (base, [MH/3]⁺).

15

20



25

TABLA 2

30

comp	% inh	R ¹ (cadena lateral aminoácido)	R ²	R ³	W, Q
11	70	Asn, Asp, Gln, Glu	3-PhO		CH=CH
12	59	Cys, Met, Ser, Thr	3-PhO		CH=CH
13	nd	Arg, Gly, His, Pro	3-PhO		CH=CH
14	30	Lys(2-Cl-Cbz), Phe, Trp, Tyr	3-PhO		CH=CH
15	48	Ala, Ile, Leu, Val	3-PhO		CH=CH
16	nd	Glu, Asp	2,3-benzo		CH=CH

50

55

60

65

ES 2 285 838 T3

comp	% inh	R ¹ (cadena lateral aminoácido)	R ²	R ³	W, Q
17	nd	Cys, Met	2,3-benzo		CH=CH
18	nd	Ser, Thr	2,3-benzo		CH=CH
19	nd	His, Arg(Mtr)	2,3-benzo		CH=CH
20	nd	Pro, Gly	2,3-benzo		CH=CH
21	nd	Phe, Tyr	2,3-benzo		CH=CH
22	nd	Trp, Lys(2-Cl-Cbz)	2,3-benzo		CH=CH
23	nd	Ile, Ala	2,3-benzo		CH=H
24	nd	Val, Leu	2,3-benzo		CH=CH
25	nd	Asn, Lys	2,3-benzo		CH=H
26	nd	Ala, Ile		3,4-benzo	CH=CH
27	nd	Arg(Mtr), Lys(2-Cl-Cbz)		3,4-benzo	CH=CH
28	nd	Asp, Glu		3,4-benzo	CH=CH
29	nd	Cys, Met		3,4-benzo	CH=H
30	nd	Gly, Pro		3,4-benzo	CH=CH
31	nd	His, Lys		3,4-benzo	CH=CH
32	nd	Leu, Val		3,4-benzo	CH=CH
33	nd	Lys(2-Cl-Cbz), Phe		3,4-benzo	CH=CH
34	nd	Ser, Thr		3,4-benzo	CH=CH
35	nd	Trp, Tyr		3,4-benzo	CH=CH

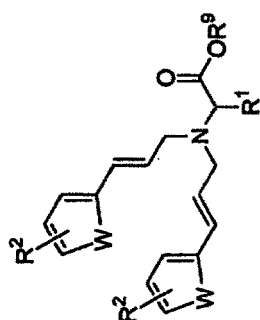


Tabla 3

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R ¹	R ²	R ⁹	W, Q	MS MH+
36	nd	CH ₃	4-CF ₃	H	CH=CH	458
37	19	H	4-CF ₃	H	CH=CH	430
38	nd	(CH ₂) ₄ NH(2-Cl-Cbz)	4-F	H	CH=CH	448
40	nd	CH ₃	4-F	H	CH=CH	223
41	nd	CH ₂ CO ₂ H	4-F	H	CH=CH	266
42	nd	CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	4-F	H	CH=CH	281
43	nd	(CH ₂) ₃ NHC(=NH)NH ₂	4-F	H	CH=CH	308
45	nd	PhCH ₂	4-F	H	CH=CH	299
46	nd	4-HO-PhCH ₂	4-F	H	CH=CH	315

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R1	R2	R9	W, Q	MS MH+
47	nd	CH ₂ OH	4-F	H	CH=CH	238
48	nd	CH(OH)CH ₃	4-F	H	CH=CH	253
49	1	(CH ₂) ₃ NHC(=NH)NH ₂	H	H	S	419
50	-6	(CH ₂) ₄ NH ₂	H	H	S	391
51	nd	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	H	H	S	376
52	21	CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	H	H	S	392
53	14	CH ₂ CO ₂ H	H	H	S	378
54	18	CH ₃	H	H	S	334
55	4	CH ₂ CH ₂ CONH ₂	H	H	S	391
56	nd	(CH ₂) ₄ NHCbz	H	Me	S	539
57	0	(CH ₂) ₄ NHCbz	H	CH ₂ Ph	S	615
58	nd	CH ₂ (indol-3-yl)	H	Me	S	463
59	26	CH ₂ CH ₂ CO ₂ -t-Bu	H	Me	S	462
60	9	CH ₂ CH ₂ CO ₂ Et	H	Me	S	434

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R1	R2	R9	W, Q	MS MH+
61	14	CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	H	Me	S	406

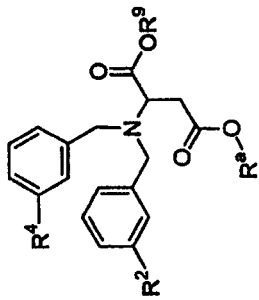


Tabla 4

comp	EPO/EBP-Ig %inh @ 50 M	R ^a	R ²	R ⁴	R ⁹	MS MH+
62	nd	t-Bu	NO ₂	NO ₂	t-Bu	516
63	20	H	PhCH ₂ NH	PhO	H	511
64	-4	H	4-MePhCONH	4-MePhCONH	H	580
65	-7	H	4-MePhSO ₂ NH	4-MePhSO ₂ NH	H	652
66	-16	H	3-ClPhCH ₂ NH	PhO	H	546
67	-8	H	3-BrPhCH ₂ NH	PhO	H	590
68	-13	H	2-FPhCH ₂ NH	PhO	H	529

(continuación)

comp	EPO/EBP-Ig λ inh @ 50 M	Ra	R2	R4	R9	MS MH+
69	-13	H	2-MePhCH ₂ NH	PhO	H	525
70	-8	H	4-FPhCH ₂ NH	PhO	H	529
71	-6	H	3-ClPhCH ₂ NH	4-Me-PhO	H	560
72	-14	H	F ₅ -PhCH ₂ NH	4-Me-PhO	H	615
73	-13	H	2-FPhCH ₂ NH	4-Me-PhO	H	543
74	-7	H	3-CNPhCH ₂ NH	4-Me-PhO	H	550
75	-2	H	PhCH ₂ NH	4-Me-PhO	H	525

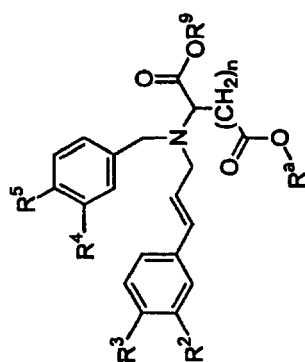


Tabla 5

comp	%inh @ 50 M	R ^a	R ²	R ³		R ⁴	R ⁵	R ⁹	n	MS MH+
76	25	t-Bu	PhO	H		PhO	H	t-Bu	1	636
77	52	H	PhO	H		PhO	H	H	1	524
78	nd	H	H	4-MePhCONH		H	PhCH ₂ O	H	2	593
79	nd	H	H	n-BuCONH		H	PhCH ₂ O	H	2	559
80	nd	H	H	2-naftil CONH		H	PhCH ₂ O	H	2	629
81	nd	H	H	2-furil CONH		H	PhCH ₂ O	H	2	569
82	32	H	H	4-MeO-PhCONH		H	PhCH ₂ O	H	2	609

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	Ra	R2	R3	R4	R5	R9	n	MS MH+
83	18	H	H	HO ₂ C(CH ₂) ₃ CONH	H	PhCH ₂ O	H	2	589
84	14	H	H	C ₂ F ₅ CONH	H	PhCH ₂ O	H	2	621
85	20	H	H	CF ₃ CONH	H	PhCH ₂ O	H	2	571
86	37	H	H	4-piridil-CONH	H	PhCH ₂ O	H	2	580
87	23	H	H	4-MePhSO ₂ NH	H	PhCH ₂ O	H	2	629
88	10,3	H	H	HO ₂ CCH ₂ (1,1-ciclopentil) CH ₂ CONH	H	PhCH ₂ O	H	2	643
89	22	H	H	PhCONH	H	PhCH ₂ O	H	2	595
90	29	H	H	4-Ph-PhCONH	H	PhCH ₂ O	H	2	655
91	19	H	H	4-NO ₂ -PhCONH	H	PhCH ₂ O	H	2	624

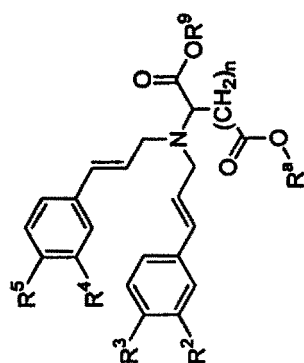


Tabla 6

comp	%inh	EPO/EBP-Ig @ 50 M	R ^a	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	R ⁹	MS MH +
92	20		H	H	H	H	H	2	Me	394
93	20		t-Bu	H	H	H	H	2	Me	450
94	25		Et	H	H	H	H	2	Me	422
95	15		t-Bu	2,3-benzo		2,3-benzo		2	Me	550
96	-5		t-Bu	PhO	H	PhO	H	2	Me	634
97	14		t-Bu	3,4-benzo		3,4-benzo		2	H	536
98	12		t-Bu	H	Ph	H	Ph	2	Me	602
99	13		t-Bu	3,4-di-Cl-PhO	H	3,4-di-Cl-PhO	H	2	Me	772
100	34		H	H	Ph	H	Ph	2	Me	546

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	Ra	R2	R3	R4	R5	R6	R9	MS MH +
101	32	H	3,4-di-Cl-PhO	H	3,4-di-Cl-PhO	H	2	Me	716
102	5	t-Bu	4-t-Bu-PhO	H	4-t-Bu-PhO	H	2	t-Bu	789
103	17	t-Bu	3-CF3-PhO	H	3-CF3-PhO	H	2	t-Bu	812
104	78	H	4-t-Bu-PhO	H	4-t-Bu-PhO	H	2	H	676
105	70	H	3-CF3-PhO	H	3-CF3-PhO	H	2	H	700
106	20	t-Bu	PhO	H	PhO	H	1	t-Bu	662
107	78	H	PhO	H	PhO	H	2	H	562*
108	81	H	PhO	H	PhO	H	1	H	550
* [M-H] ⁻									

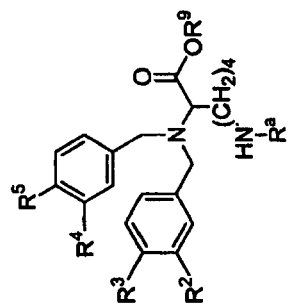


Tabla 7

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R	R	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁹	MS MH +
109	7	Boc	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	H	Me	653
110	54	H	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	Me	553
111	5	Boc	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	Me	653
112	59	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	H	Me	553
113	24	Boc	H	PhCH ₂ O	NO ₂	H	Me	592
114	37	H	H	PhCH ₂ O	NO ₂	H	Me	492
115	35	H	H	PhCH ₂ O	NH ₂	H	Me	462
116	32	H	H	PhCH ₂ O	n-BuCONH	H	Me	546
117	34	H	H	PhCH ₂ O	2-furilCONH	H	Me	556

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R	R	R3	R4	R5	R9	MS MH +
118	36	H	H	PhCH ₂ O	4-MePhCONH	H	Me	580
119	34	H	H	PhCH ₂ O	i-Pr-CONH	H	Me	532
120	35	H	H	PhCH ₂ O	4-piridil- CONH	H	Me	567
121	45	H	H	PhCH ₂ O	2-naftil- CONH	H	Me	616
122	nd	Boc	PhCH ₂ NH	H	PhCH ₂ NH	H	Me	651
123	nd	Boc	2-MePhCH ₂ NH	H	2-MePhCH ₂ NH	H	Me	679
124	nd	Boc	4-MeO-PhCH ₂ NH	H	4-MeO- PhCH ₂ NH	H	Me	711
125	nd	Boc	3,4-di-MeO- PhCH ₂ NH	H	3,4-di-MeO- PhCH ₂ NH	H	Me	771
126	nd	Boc	-NH ₂	H	-NH ₂	H	Me	471
127	nd	H	PhCH ₂ NH	H	PhCH ₂ NH	H	Me	551
128	nd	H	2-MePhCH ₂ NH	H	2-MePhCH ₂ NH	H	Me	579

(continuación)

comp	%inh @ 50 M	R	R	R3	R4	R5	R9	MS MH +
129	nd	H	4-MeO-PhCH ₂ NH	H	4-MeO- PhCH ₂ NH	H	Me	611
130	nd	H	3,4-di-MeO- PhCH ₂ NH	H	3,4-di-MeO- PhCH ₂ NH	H	Me	671
131	nd	H	PhCH ₂ CH ₂ N	H	PhCH ₂ CH ₂ NH	H	Me	579
132	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	PhCH ₂ NH	H	PhCH ₂ NH	H	Me	651
133	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	2-MePhCH ₂ NH	H	2-MePhCH ₂ NH	H	Me	679
134	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	4-MeO-PhCH ₂ NH	H	4-MeO- PhCH ₂ NH	H	Me	711
135	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	3,4-di-MeO- PhCH ₂ NH	H	3,4-di-MeO- PhCH ₂ NH	H	Me	771
136	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	PhCH ₂ CH ₂ N	H	PhCH ₂ CH ₂ NH	H	Me	679

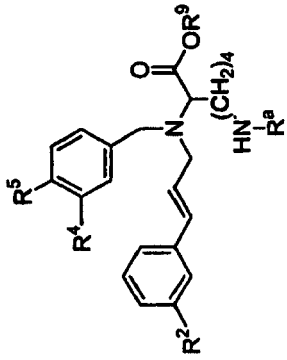


Tabla 8

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R ^a	R ²	R ⁴	R ⁵	R ⁹	MS MH+
137	nd	H	PhO	PhO	H	Me	551
138	nd	Boc	4-t-Bu-PhO	PhCH ₂ O	H	Me	721
139	nd	H	4-t-Bu-PhO	PhCH ₂ O	H	Me	621
140	nd	H	(CF ₃ CO) ₂ N	PhCH ₂ O	H	H	666
141	nd	H	PhCONH	PhCH ₂ O	H	H	578
142	nd	H	4-piridil-CONH	PhCH ₂ O	H	H	579
143	nd	H	(CF ₃ CO) ₂ N	PhO	H	H	652
144	nd	H	PhCONH	PhO	H	H	564
145	nd	H	4-piridil-CONH	PhO	H	H	565

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	Ra	R2	R4	R5	R9	MS MH+
146	nd	H	(CF ₃ CO) ₂ N	MeO	MeO	H	620
147	nd	H	PhCONH	MeO	MeO	H	532
148	nd	H	4-piridil-CONH	MeO	MeO	H	533
149	nd	H	(CF ₃ CO) ₂ N	H	PhO	H	652
150	nd	H	PhCONH	H	PhO	H	564
151	nd	H	4-piridil-CONH	H	PhO	H	565
152	nd	H	PhCONH	H	PhCH ₂ O	H	578
153	nd	H	4-piridil-CONH	H	PhCH ₂ O	H	579
154	nd	H	(CF ₃ CO) ₂ N	H	PhCH ₂ O	H	666
155	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-MeO-PhCONH	PhO	H	H	694
156	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	PhCONH	PhO	H	H	664
157	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	2-naftil-CONH	PhO	H	H	714
158	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-Me-PhSO ₂ NH	PhO	H	H	714
159	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-MeO-PhCONH	2,3-benzo		H	652

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	Ra	R2	R4	R5	R9	MS MH+
160	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	PhCONH	2, 3-benzo		H	622
161	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	2-naftil-CONH	2, 3-benzo		H	672
162	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-Me-PhSO ₂ NH	2, 3-benzo		H	672
163	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-MeO-PhCONH	H	F	H	620
164	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	PhCONH	H	F	H	590
165	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	2-naftil-CONH	H	F	H	640
166	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-Me-PhSO ₂ NH	H	F	H	640
167	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-MeO-PhCONH	PhCH ₂ O	H	H	708
168	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	PhCONH	PhCH ₂ O	H	H	678
169	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	2-naftil-CONH	PhCH ₂ O	H	H	728
170	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ C O	4-Me-PhSO ₂ NH	PhCH ₂ O	H	H	728

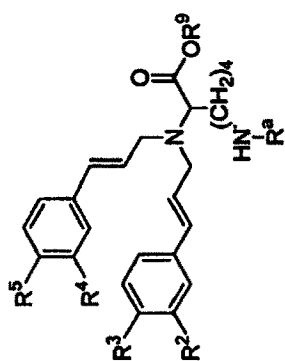


Tabla 9

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R ^a	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁹	MS MH +
171	nb	Cbz	H	H	H	H	Me	527
172	15	Cbz	H	H	H	H	H	513
173	5	Cbz	H	H	H	H	t-Bu	569
174	23	Cbz	H	MeO	H	MeO	Me	587
175	1	Cbz		3,4-benzo		3,4-benzo	Me	627
176	-4	Cbz	PhO	H	PhO	H	Me	711
177	nd	Cbz	2,3-benzo		2,3-benzo		Me	627
178	36	Boc	H	NO ₂	H	NO ₂	Me	583
179	30	Boc	H	NO ₂	H	NO ₂	H	569

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	Ra	R2	R3	R4	R5	R9	MS MH +
180	-4	Boc	PhO	H	PhO	H	Me	677
181	-9	Boc	4-t-Bu-PhO	H	4-t-Bu-PhO	H	Me	790
182	18	H	4-t-Bu-PhO	H	4-t-Bu-PhO	H	Me	689
183	36	Boc	NO ₂	H	NO ₂	H	Me	583
184	53	H	NO ₂	H	NO ₂	H	Me	483
185	29	H	NH ₂	H	NH ₂	H	Me	423
186	nd	H	n-Bu-CONH	H	n-Bu-CONH	H	Me	591
187	nd	H	2-furil-CONH	H	2-furil-CONH	H	Me	611
188	nd	H	PhCONH	H	PhCONH	H	Me	631
189	nd	H	4-Me-PhCONH	H	4-Me-PhCONH	H	Me	659
190	nd	H	4-NO ₂ -PhCONH	H	4-NO ₂ -PhCONH	H	Me	721
191	nd	H	4-Me-PhSO ₂ NH	H	4-Me-PhSO ₂ NH	H	Me	731
192	nd	H	Cbz-NH	H	Cbz-NH	H	Me	691
193	nd	H	4-Br-PhCONH	H	4-Br-PhCO	H	Me	789

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	Ra	R2	R3	R4	R5	R9	MS MH +
194	nd	H	2-MeO-PhCONH	H	2-MeO-PhCONH	H	Me	691
195	nd	H	3-MeO-PhCONH	H	3-MeO-PhCONH	H	Me	691
196	nd	H	4-MeO-PhCONH	H	4-MeO-PhCONH	H	Me	691
197	nd	H	CH ₃ CH=CHCON H	H	CH ₃ CH=CHCON H	H	Me	559
198	nd	H	C ₂ F ₅ CONH	H	C ₂ F ₅ CONH	H	Me	715
199	nd	H	2-naftil-CONH H		2-naftil-CONH H		Me	731
200	nd	H	EtO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO NH	H	EtO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO NH	H	Me	679
201	nd	H	CF ₃ CONH	H	CF ₃ CONH	H	Me	615
202	nd	H	MeSO ₂ NH	H	MeSO ₂ NH	H	Me	579

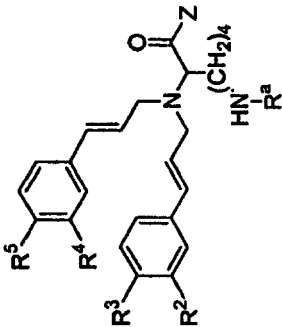


Tabla 10

comp	%inh EPO/EBPIg @ 50 M	R ^a	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Z	MS MH +
203	37	Boc	H	H	H	H	4-(MeCOCH ₂ CH ₂)-PhNH	640
204	-6	H	H	H	H	H	4-(MeCOCH ₂ CH ₂)-PhNH	540
205	26	H	H	H	H	H	n-Bu-NH	434
206	17	2-MeO-PhCO	H	H	H	H	n-Bu-NH	568
207	20	4-MeO-PhCO	H	H	H	H	n-Bu-NH	568
208	22	PhCO	H	H	H	H	n-Bu-NH	538
209	25	2-MeO-PhCO	H	H	H	H	n-Bu-NH	568
210	nd	Boc	H	H	H	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	612
211	62	H	H	H	H	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	512

(continuación)

comp	%inh EPO/EBPIg @ 50 M	Ra	R2	R3	R4	R5	Z	MS MH +
212	-10	H	H	H	H	H	n-Pr-NH	420
214	nd	Boc	H	H	H	H	3,4-di-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	642
215	nd	Boc	H	H	H	H	3-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	612
216	10	Boc	H	H	H	H	4-(PhCH=CHCH ₂ O)-PhCH ₂ NH	700
217	nd	Boc	H	H	H	H	4-HO-PhCH ₂ NH	584
218	nd	Boc	H	H	H	H	EtNH	506
219	nd	Boc	H	H	H	H	MeNH	492
220	45	H	H	H	H	H	4-(PhCH=CHCH ₂ O)-PhCH ₂ NH	600
221	48	H	H	H	H	H	3,4-di-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	542
222	56	H	H	H	H	H	3-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	512
223	nd	Boc	H	H	H	H	2-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	612
224	51	H	H	H	H	H	2-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	512
225	10	Boc	PhO	H	PhO	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	797
226	nd	Boc	H	H	H	H	PhCH ₂ CH ₂ NH	582

(continuación)

comp	%inh EPO/EBPIg @ 50 M	Ra	R2	R3	R4	R5	Z	MS MH +
227	48	H	H	H	H	H	PhCH ₂ CH ₂ NH	482
228	21	PhNHCO	PhO	H	PhO	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	816
229	22	4-PhO-PhNHCO	H	H	H	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	723
230	42	3,4-di-Cl-PhNHCO	H	H	H	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	700
231	36	4-EtO ₂ C-PhNHCO	H	H	H	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	703
232	14	4-PhO-PhNHCO	PhO	H	PhO	H	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	908
233	18	H	H	NO 2	H	NO 2	3-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	602
234	nd	Boc	H	H	H	H	PhCH ₂ NH	568
235	49	H	H	H	H	H	PhCH ₂ NH	468
236	nd	Boc	H	Ph	H	Ph	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	765
237	55	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	H	H	H	H	3-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	612
238	39	H	H	Ph	H	Ph	4-MeO-PhCH ₂ CH ₂ NH	664
239	46	H	PhO	H	PhO	H	PhCH ₂ CH ₂ NH	666
240	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CH ₂ CO	PhO	H	PhO	H	PhCH ₂ CH ₂ NH	780

(continuación)

comp	EPO / EBPIg %inh @ 50 M	Ra	R2	R3	R4	R5	Z	MS MH +
285	40	H	H	H	H	H	4-(NH ₂ CO)piperidin-1-ilo	489

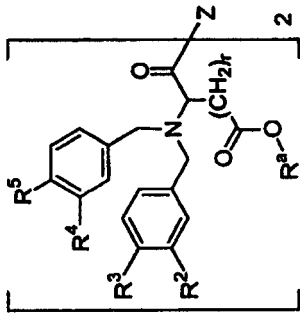


Tabla 11

comp	%inh EPO/EBPIg @ 50 M	R ^a	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Z	r	MS MH ₂ /2] +
241	2	t-Bu	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	NH(CH ₂) ₃ O(CH ₂) ₄ O(CH ₂) ₃ NH	1	666
242	1	t-Bu	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	NH(CH ₂) ₃ O(CH ₂ CH ₂ O) ₂ (C H ₂) ₃ NH	1	674
243	75	H	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	NH(CH ₂) ₃ O(CH ₂) ₄ O(CH ₂) ₃ NH	1	610
244	66	H	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	NH(CH ₂) ₃ O(CH ₂ CH ₂ O) ₂ (C H ₂) ₃ NH	1	618

comp	%inh EPO/EBPIg @ 50 M	R ^a	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Z	r	MS [MH ₂ /2] +
245	0	t-Bu	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	NH(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ NH	2	652
246	79	H	H	PhCH ₂ O	H	PhCH ₂ O	NH(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ NH	2	596
247	47	H	n-Bu-CONH-	H	Ph O	H	NH(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ NH	2	575
248	56	H	2-furil- CONH	H	Ph O	H	NH(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ NH	2	585
249	72	H	4-Me- PhCON H	H	Ph O	H	NH(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ NH	2	609
250	78	H	4-Me- PhSO ₂ N H	H	Ph O	H	NH(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ NH	2	645

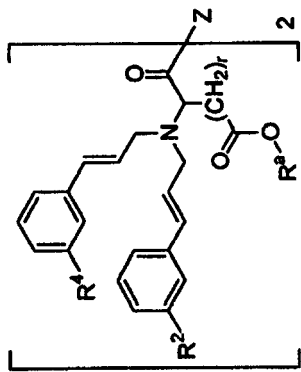


Tabla 12

comp	%inh @ 50 M	R ^a	R ²	R ⁴	Z	r	MS [MH ₂ /2] ⁺
251	49	H	H	H	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ NH	2	436
252	-4	t-Bu	4-t-Bu-PhO	4-t-Bu-PhO	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂) ₄ O (CH ₂) ₃ NH	1	803
253	-5	t-Bu	4-t-Bu-PhO	4-t-Bu-PhO	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂ CH ₂ O) ₂ (C H ₂) ₃ NH	1	811
254	-9	t-Bu	4-t-Bu-PhO	4-t-Bu-PhO	NH (CH ₂) ₁₀ NH	1	787
255	0	t-Bu	4-t-Bu-PhO	4-t-Bu-PhO	NH (CH ₂) ₁₂ NH	1	801
256	10	t-Bu	4-t-Bu-PhO	4-t-Bu-PhO	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ NH	1	789

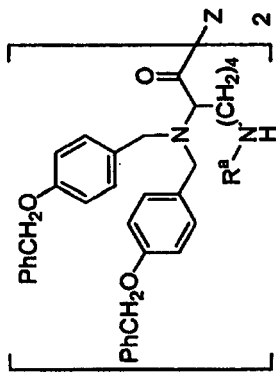


Tabla 13

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R ^a	Z	MS [MH ₂ /2] +
257	-26	Boc	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂ CH ₂ O) ₂ (CH ₂) ₃ NH	731
258	-24	Boc	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂) ₄ O (CH ₂) ₃ N H	723
259	-13	Boc	NH (CH ₂) ₁₂ NH	721
260	-12	Boc	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ N H	695
261	51	H	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ N H	595
262	93	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ N H	695
263	88	HO ₂ C (CH ₂) ₃ CO	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ N H	709
264	89	HO ₂ CCH ₂ CMe ₂ CH ₂ CO	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ N H	737
265	65	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂) ₄ O (CH ₂) ₃ N H	723
266	82	HO ₂ C (CH ₂) ₃ CO	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂) ₄ O (CH ₂) ₃ N H	737

(continuación)

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	Ra	Z	MS [MH ₂ /2] +
267	83	HO ₂ CCH ₂ CMe ₂ CH ₂ CO	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂) ₄ O (CH ₂) ₃ N H	765
268	40	HO ₂ CCH ₂ CMe ₂ CH ₂ CO	NH (CH ₂) ₁₂ NH	764
269	55	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CH ₂ C O	NH (CH ₂) ₁₂ NH	735
270	56	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	NH (CH ₂) ₁₂ NH	721
271	77	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂ CH ₂ O) ₂ (CH ₂) ₃ NH	731
272	78	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CH ₂ C O	NH (CH ₂) ₃ O (CH ₂ CH ₂ O) ₂ (CH ₂) ₃ NH	745

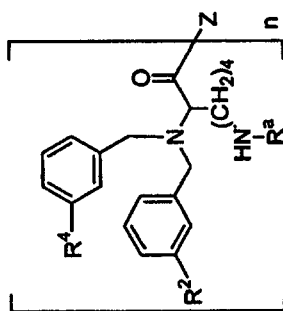


Tabla 14

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R ^a	R ²	R ⁴	Z	n	MS [MH ₂ /2] +
273	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	4-Me-PhO	4-Me-PhO	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (C H ₂) ₂ NH	2	695

(continuación)

comp	%inh @ 50 M	EPO/EBP-Ig Ra	R2	R4	Z	n	MS [MH2/2]+
274	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	PhO	PhO	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (C H ₂) ₂ NH	2	667
275	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	4-MeO-PhO	4-MeO-PhO	NH (CH ₂) ₂ O (CH H ₂) ₂ NH	2	727
276	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	4-t-Bu-PhO	4-t-Bu-PhO	NH (CH ₂) ₂ O (CH ₂) ₂ O (C H ₂) ₂ NH	2	780
277	nd	H	PhO	PhO	(NHCH ₂ CH ₂) ₃ N	3	813
278	nd	H	4-Me-PhO	4-Me-PhO	(NHCH ₂ CH ₂) ₃ N	3	855
279	nd	H	4-MeO-PhO	4-MeO-PhO	(NHCH ₂ CH ₂) ₃ N	3	903
280	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	4-MeO-PhO	4-MeO-PhO	(NHCH ₂ CH ₂) ₃ N	3	1053
281	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	4-Me-PhO	4-Me-PhO	(NHCH ₂ CH ₂) ₃ N	3	1005
282	nd	HO ₂ CCH ₂ CH ₂ CO	PhO	PhO	(NHCH ₂ CH ₂) ₃ N	3	963
283	nd	Boc	PhO	PhO	NH (CH ₂) ₃ NMe (CH ₂) ₃ NH	2	666
284	nd	Boc	4-Me-PhO	4-Me-PhO	NH (CH ₂) ₃ NMe (CH ₂) ₃ NH	2	694

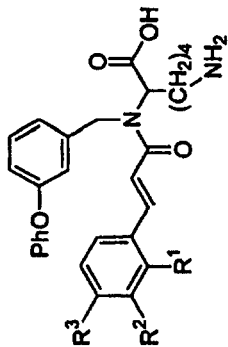
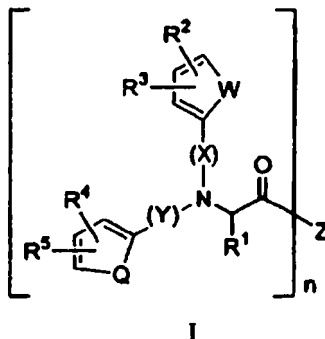


Tabla 14

comp	%inh EPO/EBP-Ig @ 50 M	R ¹	R ²	R ³	MS, MH+
285	-28	Me	H	H	473
286	46	H	PhCH ₂ O	H	565
287	36	H	4-MePhO	H	565
288	27	H	4-tBuPhO	H	607
289	20	H	H	PhO	551

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I, para su uso como medicamento,



donde:

R¹

es la cadena lateral de un α -aminoácido natural o no natural donde, si dicha cadena lateral contiene un grupo protegible, ese grupo puede ser protegido con un grupo succinilo, glutarilo, 3,3-dimetilglutarilo, alquilo C₁-C₅, alcoxi (C₁-C₅)carbonilo, acetilo, N-(9-fluorenilmetoxycarbonilo), trifluoroacetilo, omega-carboxialquil(C₁-C₅)carbonilo, t-butoxicarbonilo, bencilo, benciloxycarbonilo, 2-clorobenciloxi-carbonilo, fenilsulfonilo, ureido, t-butilo, cinamoilo, tritilo, 4-metiltritilo, 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxo-ciclohexilideno)-etilo, tosilo, 4-metoxi-2,3,6-trimetilbencenosulfonilo, fenilureido o fenilureido sustituido (donde los sustituyentes fenílicos se seleccionan entre fenoxi, halo y alcoxi(C₁-C₅)carbonilo);

R² y R³; y R⁴ y R⁵; se pueden tomar juntos independientemente para formar un anillo aromático de seis miembros que se fusiona con el anillo representado, o

se seleccionan independientemente entre:

hidrógeno, alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, hidroxilo, halo, trifluorometilo, nitro, amino, fenilo, fenoxi, fenilalquilo C₁-C₅, fenilalcoxi C₁-C₅,

fenilo sustituido fenoxi sustituido, fenilalquilo C₁-C₅ sustituido o fenilalcoxi C₁-C₅ sustituido (donde los sustituyentes se seleccionan entre alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, hidroxilo, halo, trifluorometilo, nitro, nitrilo y amino) y

amino sustituido (donde los sustituyentes se seleccionan entre uno o más de alquilo C₁-C₅, alquilo C₁-C₅ sustituido con halo, alquino C₁-C₅, alqueno C₁-C₅, fenilo, fenilalquilo C₁-C₅, alquil(C₁-C₅)carbonilo, alquil(C₁-C₅)carbonilo sustituido con halo, carboxialquilo C₁-C₅, alcoxi(C₁-C₅)alquilo C₁-C₅, cinamoilo, naftilcarbonilo, furilcarbonilo,

piridilcarbonilo, alquil(C₁-C₅)sulfonilo,

fenilcarbonilo, fenilalquil(C₁-C₅)carbonilo, fenilsulfonilo, fenilalquil(C₁-C₅)sulfonilo, fenilcarbonilo sustituido, fenilalquil(C₁-C₅)carbonilo sustituido, fenil-sulfonilo sustituido, fenilalquil(C₁-C₅)sulfonilo sustituido, fenilo sustituido y fenilalquilo C₁-C₅ sustituido [donde los sustituyentes fenilo aromático, fenilalquilo C₁-C₅, fenilcarbonilo, fenilalquil(C₁-C₅)carbonilo, fenilsulfonilo y fenilalquil(C₁-C₅)sulfonilo se seleccionan independientemente entre uno a cinco miembros de alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, hidroxilo, halógeno, trifluorometilo, nitro, nitrilo y amino];

W y Q

son independientemente -CH=CH-, -S- o -CH=N-;

X e Y

son independientemente carbonilo, alquilo C₁-C₅, alqueno C₁-C₅, alquenal(C₁-C₅)carbonilo o (CH₂)_m-C(O)- donde m es 2-5;

n es 1, 2, o 3;

Z es hidroxi, alcoxi C₁-C₅, fenoxi, fenilalcoxi C₁-C₅, amino, alquil(C₁-C₅)amino, dialquil(C₁-C₅)amino, fenilamino, fenilalquil(C₁-C₅)amino, piperidin-1-ilo, piperidin-1-ilo sustituido (donde los sustituyentes se seleccionan entre alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, halo, aminocarbonilo, alcoxi(C₁-C₅)carbonilo y oxo), fenilalquil(C₁-C₅)amino sustituido (donde los sustituyentes aromáticos se seleccionan entre alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, fenilalquenil(C₁-C₅)oxi, hidroxi, halógeno, trifluorometilo, nitro, nitrilo y amino), fenoxi sustituido (donde los sustituyentes aromáticos se seleccionan entre alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, hidroxi, halógeno, trifluorometilo, nitro, nitrilo, y amino), fenilalcoxi C₁-C₅ sustituido (donde los sustituyentes aromáticos se seleccionan entre alquilo C₁-C₅, alcoxi C₁-C₅, hidroxi, halógeno, trifluorometilo, nitro, nitrilo y amino), -OCH₂CH₂(OCH₂CH₂)OCH₂CH₂O-, -NHCH₂CH₂(OCH₂CH₂)_sOCH₂CH₂NH-, -NH(CH₂)_pO(CH₂)_qO(CH₂)_pNH-, -NH(CH₂)_qNCH₃(CH₂)_sNH-, -NH(CH₂)_sNH- o -(NH(CH₂)_s)₃N, donde s, p, y q se seleccionan independientemente entre 1-7 con la condición de que si n es 2, Z no es hidroxi, alcoxi C₁-C₅, amino, alquil(C₁-C₅)amino, dialquil(C₁-C₅)amino, fenilamino, fenilalquil(C₁-C₅)amino o piperidin-1-ilo

con la condición adicional de que si n es 3, Z es (NH(CH₂)_s)₃N.

y las sales del mismo.

2. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde R¹ es la cadena lateral de lisina, ornitina, arginina, ácido aspártico, ácido glutámico, glutamina, cisteína, metionina, serina o treonina.

3. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde R² y R³ son independientemente fenoxi, fenoxi sustituido, benciloxi o benciloxi sustituido.

4. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde R⁴ y R⁵ son independientemente fenoxi, fenoxi sustituido, benciloxi o benciloxi sustituido.

5. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde W es -CH=CH-.

6. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde Q es -CH=CH-.

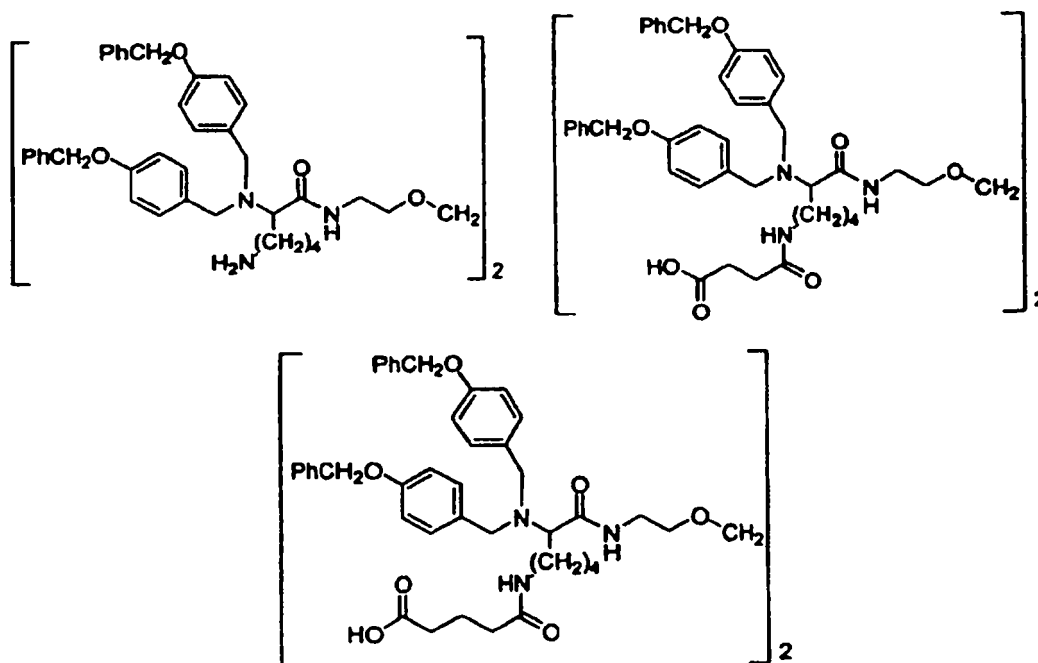
7. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde X es alqueno C₁-C₅ o -CH₂-.

8. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde Y es alqueno C₁-C₅ o -CH₂-.

9. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde n es 1 o 2.

10. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, donde Z es hidroxi, metoxi, fenetilamino, fenetilamino sustituido o -NH(CH₂)₂O(OH₂)₂O(CH₂)₂NH-.

11. Un compuesto para su uso como medicamento según la reivindicación 1, que es



y las sales del mismo.

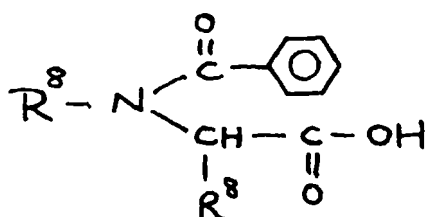
12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 y un portador farmacéuticamente aceptable.

13. A método para elaborar una composición farmacéutica que comprende mezclar un compuesto de Fórmula I como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 y un portador farmacéuticamente aceptable.

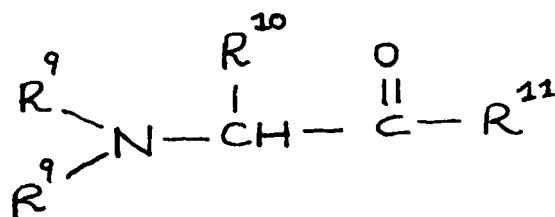
14. Un método *in vitro* para modular un receptor de EPO que comprende poner en contacto el receptor de EPO con una cantidad moduladora del receptor de EPO de un compuesto de Fórmula I como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11.

15. El uso de un compuesto de Fórmula I como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o una afección mediada por el receptor de EPO.

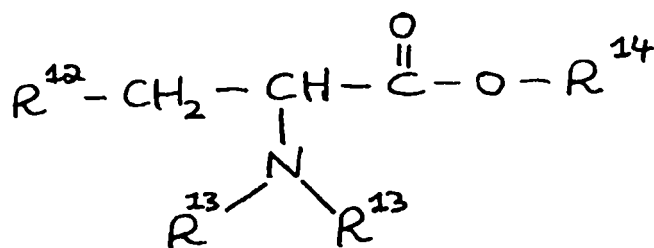
16. Un compuesto de Fórmula I como se ha definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, siempre que el compuesto no sea:



donde R^8 es bencilo,



donde R^9 es bencilo, R^{10} es isobutilo, bencilo, fenetilo, ciclohexilmetilo, ciclohexilo, isopropilo, butilo secundario o metilo y R^{11} es hidroxilo o metoxi, o



donde R^{12} es 4-metoxifenilo, R^{13} es bencilo y R^{14} es hidrógeno o bencilo.