



Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

Delegatura de propiedad Industrial

Division de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

06-20917

21 EXPEDIENTE No

54 TÍTULO

PREPARACION DE PEPTIDOS DE SOMATOSTATINA

51 CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

C.07K 7/00

71 SOLICITANTE

NOVARTIS AG

DOMICILIO

BASILEA SUIZA

74 APODERADO

JIMENA ESCOBAR URIBE

22 BOGOTÁ, D C ,

Marzo 2-2006

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT**

ENTRADA EN FASE NACIONAL 08.03.2006

SOLICITUD DE:

1.



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **NOVARTIS AG**

Dirección: Lichtstrasse 35, CH-4002 Basilea,
Suiza.

Nacionalidad o Domicilio: Basilea, Suiza

Lugar de Constitución: Suiza

Teléfono: 41613241111 Fax: 41613227532
E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Número

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)**

Nombre: **JIMENA ESCOBAR URIBE**

Dirección: Cra. 11A No. 94-76 (Of. 305)

Teléfono: 6 162051/61 Fax: 6 161889

E-mail: tm-patent@escobaruribe.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Número 39.779.452T.P 68228

4

**INVENTOR (ES)
(72)**

Nombre: **VER ANEXOS**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5. **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. **PCT/EP2004/008850**

Fecha **06 de agosto de 2004**

Publicación Internacional No. **WO 2005/014624 A2**

Fecha **17 de febrero de 2005**

6 **TÍTULO (54) PREPARACION DE PEPTIDOS DE SOMATOSTATINA**

7 **Clasificación Internacional (51)**

C07K 7/00, A61K 38/16, A61P 5/02

8 **Prioridad**

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

Reino Unido de la Gran Bretaña

(32) Fecha

06 de agosto de 2003

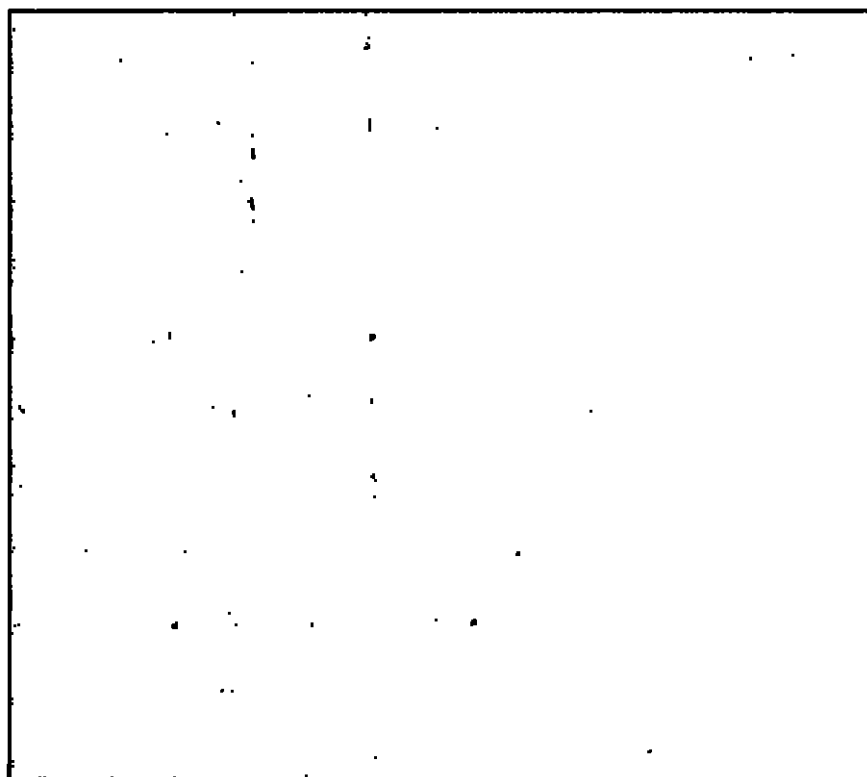
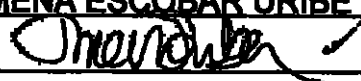
(31) Número de Solicitud

0318882.2

9 **C mprobante de pago No. 06 - 14.881**

Fecha 22 de febrero de 2006

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredite la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica No. 17.398
- ☐ Poderes si fuere el caso * Protocolo No. 17.398
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante
- ☐ Declaraciones
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros "Opinión escrita".

11 FIGURA CARACTERÍSTICA**12 Solicito la concesión de la patente**NOMBRE: JIMENA ESCOBAR URIBEFIRMA: 

C.C. 39.779.452 DE Usaquén T.P. 68.228

ADMINISTRACION Y COMERCIO
Radicacon : 06005/17 00000000 Folio: 66
Fecha (PMB): 2006-02-22 14:52:59
Tramite : 011 PCI-PATENT 376 FASE NDCI 411 PRESENTAC
Destinatario: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 14,881
FECHA : FEBRERO 22 DE 2006

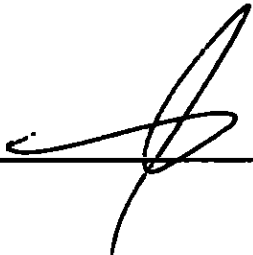
***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
ESCOBAR URIBE ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	10659566	21/02/2006	7,631,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRANITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	463,000.00
		TOTAL :	\$ 463,000.00

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : 

ANEXOS**INVENTORES****1.)****HELLSTERN, Heribert**

(Im Bachacker 9, 79423 Heitersheim, Alemania);

2.)**PACHINGER, Werner**

(Markgräflerstrasse 75, CH-4057 Basilea, Suiza);

3.)**PRIKOSZOVICH, Walter**

(Längeweg 11, CH-4124 Schönenbuch, Suiza);

4.)**WIETFELD, Bernhard**

(Dichleweg 27, 79588 Efringen-Kirchen, Alemania).

Solicito expresamente a nombre de la sociedad **NOVARTIS AG**, sociedad constituida de conformidad con las leyes de Suiza, domiciliada en Lichtstrasse 35, CH-4056 Basilea, Suiza, el otorgamiento de Patente para la invención titulada **“PREPARACION DE PEPTIDOS DE SOMATOSTATINA”**.

Clase: C07K 7/00


JIMENA ESCOBAR URIBE
C.C. 39.779.452 de Usaquen.
T.P. 68.228

DOCUMENTO DE CESIÓN
ASSIGNMENT DOCUMENT

El (los) suscrito (s), en su calidad de inventor (es) de

"Preparación de péptidos de somatostatina"

declara (an) que cede (n) y traspasa (n) todos los derechos que les correspondan en y sobre el invento atrás mencionado a NOVARTIS AG, una compañía suiza constituida y existente bajo las leyes de Suiza, domiciliada en CH-4002 Basilea, Suiza, en cuanto se refiere a la República de Colombia.

The undersigned, as inventor (s) of

PREPARATION OF SOMATOSTATIN PEPTIDES

hereby declare (s) that assign (s) all the rights in and to the aforementioned invention to NOVARTIS AG, a Swiss company incorporated and existing in conformity with the laws of Switzerland, domiciled at CH-4002 Basel, Switzerland, as far as the Republic of Colombia is concerned.

✓ Heribert Hellstern
Heribert HELLSTERN
domiciled at
Im Bachacker 9, 79423 Heltersheim
Germany

FIRMA DEL CEDENTE
domiciliado en

✓ Werner Pachinger
Werner PACHINGER
domiciled at
Markgräflerstrasse 75, 4057 Basel,
Switzerland

FIRMA DEL CEDENTE
domiciliado en

✓ Walter Prikoszovich
Walter PRIKOSZOVICH
domiciled at
Längeweg 11, 4124 Schönenbuch,
Switzerland

FIRMA DEL CEDENTE
domiciliado en

✓ Bernhard Wietfeld
Bernhard WIETFELD
domiciled at
Dichleweg 27, 79588 Efringen-Kirchen,
Germany

FIRMA DEL CEDENTE
domiciliado en

Attestation

I, the undersigned notary public of Basel, Switzerland, certify herewith the authenticity of the signatures of **Mr. Heribert Hellstern**, German citizen, residing in Heltersheim, Germany, **Mr. Werner Pachinger**, Austrian citizen, residing in Basel, Switzerland, **Dr. Walter Prikoszovich**, Austrian citizen, residing in Schönenbuch, Switzerland, and **Mr. Bernhard Wietfeld**, German citizen, residing in Efringen-Kirchen, Germany.

The authenticity of the signatures was established by comparison.

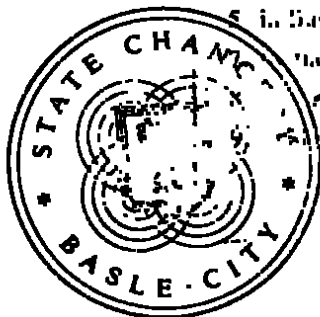
BASEL, this 31st (thirty-first) day of January 2006 (twothousandandsix).



M. Staehelin, Notar

Leg.Prot.Nr.: 93 /2006

APOSTILLE	
(Hague Convention of October 5th, 1961)	
1. Country: Switzerland (Schweiz/Suisse)	This official document
2. Signed by <i>Dr. Staehelin</i>	
3. in his/her function as <i>Notar</i>	
4. and certified by the seal of the <i>Government</i>	
Certified on 31 Jan. 2006	
5. in Basel (Basle)	6. on
the State Chancery of the Canton of Basel-Stadt	
<i>2788/11'909</i>	
10. Signature:	
<i>Heidi Fischer</i>	
Heidi Fischer	



RETIREO FOLIOS 677 PARA PUBLICAR.

RESUMEN

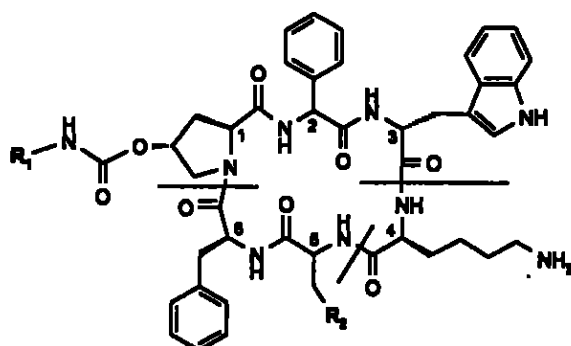
- 5 Se proporciona un procedimiento para preparar análogos de somatostatina cíclica y los intermediarios lineales utilizados en este procedimiento.

PREPARACION DE PEPTIDOS DE SOMATOSTATINA

La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar análogos de somatostatina cíclicos y los intermediarios
5 utilizados en este procedimiento.

Más particularmente la invención proporciona un procedimiento para la preparación de un análogo de somatostatina cíclica de la fórmula I.

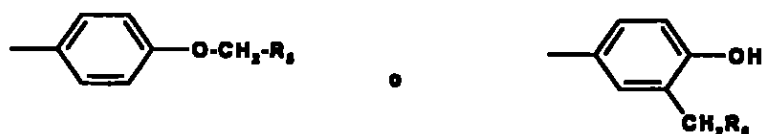
10



15 en donde

R_1 es alquileo de 2 a 6 átomos de carbono- NR_3R_4 , alquileo de 2 a 6 átomos de carbono-guanidina, o alquileo de 2 a 6 átomos de carbono- $COOH$ en donde cada uno de R_3 y R_4 es independientemente H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono,
20 ω -hidroxi-alquileo de 2 a 4 átomos de carbono o acilo o R_3 y R_4 forman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos un grupo heterocíclico el cual puede comprender un átomo heterogéneo adicional, y

R_2 es $Z_1-CH_2-R_5$, $-CH-CO-O-CH_2-R_5$



5

en donde Z_1 es O o S y R_5 es fenilo opcionalmente sustituido, o una sal del mismo.

Cualquier acilo puede ser por ejemplo, R_6CO- en donde R_6 es H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alquenilo de 2 a 4 átomos de carbono, cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono o bencilo. Cuando NR_3R_4 forma un grupo heterocíclico, dicho grupo puede ser aromático o saturado y puede comprender un nitrógeno o un nitrógeno y un segundo átomo heterogéneo seleccionado de nitrógeno y oxígeno. Preferiblemente el grupo heterocíclico es por ejemplo, piridilo o morfolino. El alquileno de 2 a 6 átomos de carbono es preferiblemente $-CH_2-CH_2-$. Cuando R_5 es fenilo sustituido, el anillo de fenilo puede ser sustituido por halógeno, metilo, etilo, metoxi o etoxi, por ejemplo, en orto y/o para. Preferiblemente, R_5 es fenilo no sustituido.

20 Los aminoácidos en las posiciones 2 y/o 5 pueden tener la configuración D o L. preferiblemente cada uno de ellos tiene la configuración L.

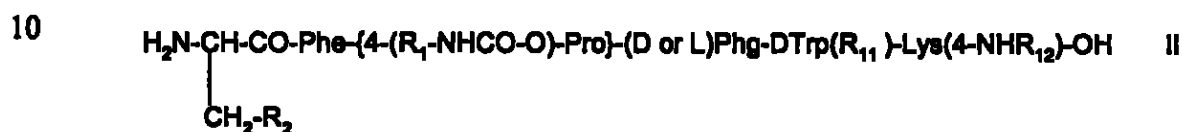
Los compuestos de la fórmula I pueden existir, por

ejemplo, en forma libre o de sal. Las sales incluyen sales de adición de ácido con por ejemplo, ácidos orgánicos, ácidos poliméricos o ácidos inorgánicos, por ejemplo con ácido clorhídrico, ácido acético, ácido láctico, ácido aspártico, ácido benzoico, ácido succínico o ácido pamoico, o por ejemplo sales de metal alcalino cuando R_1 comprende un grupo COOH. Las sales de adición de ácido pueden existir como sales mono o divalentes, por ejemplo, dependiendo de si 1 o 2 equivalentes de ácido se agregan al Compuesto de la fórmula I en la forma de base libre. Las sales preferidas son la di-sal de aspartato o la mono-sal de pamoato.

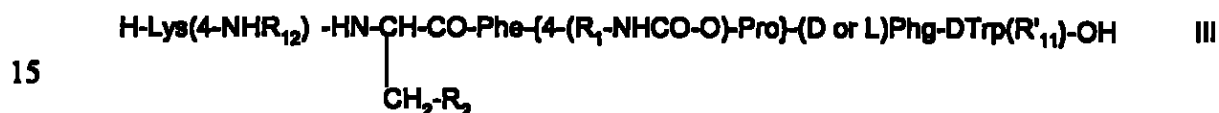
El procedimiento para la producción de acuerdo con la invención comprende un paso de ciclización de un péptido lineal correspondiente en forma protegida. Ahora sorprendentemente se ha encontrado que el paso de ciclización es particularmente dependiente de la selección de 2 aminoácidos terminal del péptido lineal correspondiente. Aparte de 6 posibilidades de ciclización, sorprendentemente se ha encontrado que la ciclización entre los aminoácidos 3 y 4, o 4 y 5, o 6 y 1 proporciona resultados significativamente importantes. La ciclización entre los aminoácidos 4 y 5 es particularmente preferida. La ciclización de acuerdo con la invención entre los aminoácidos 3 y 4, o 4 y 5, o 6 y 1, se dirigen hacia el

mejoramiento del rendimiento con cada isomerización reducida en los sitios quirales. Además, estos pasos de ciclización pueden ser llevados a cabo condiciones y reactivos menos rigurosas: por ejemplo, ciclización a través del uso de una azida que puede ser evitada.

En una primera modalidad de la invención, se proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula I o una sal del mismo como se indicó anteriormente, que comprende ciclizar un análogo de somatostatina lineal de la fórmula II



o la fórmula III



o la fórmula IV



en donde R_1 y R_2 son como se definieron,

cada uno de R_{11} y R_{12} , independientemente, es un grupo protector amino

por medio del cual cuando R_1 comprende un NH_2 terminal,

este NH₂ terminal también está protegido por el grupo protector amino,

y en donde la remoción requerida del grupo(s) protector,

y la recuperación de un compuesto de la fórmula I de esta
5 manera se obtiene en forma libre o en la forma de sal.

Los grupos protectores amino adecuados son por ejemplo, como se describe, por ejemplo, en "Protective Groups in Organic Síntesis", T.W. Greene y otros, John Wiley & Sons Inc., Segunda Edición, 1991. Ejemplos de dichos grupos protectores amino son
10 por ejemplo, grupos acetilo o amino según utilizados en la síntesis de péptido, por ejemplo, ter-butoxi-carbonilo, carbobenzoxi, fluorenilmetilcarbonilo, aloxicarbonilo, 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)etilo, 1-(4,4-dimetil-2,6-dioxociclohexiliden)-3-metilbutilo, 4-metiltritilo, (W.C. Chan y
15 P.D. White, Fmoc solid Phase Peptide Síntesis, Oxford University Press, 2000).

La ciclización puede convenientemente ser llevada a cabo en presencia de un derivado basado en fosfonio por su activación carboxi *in situ*, por ejemplo, hexafluorofosfato O-
20 (benzotriazol-1-il)N,N,N',N'-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio, N-óxido de tetrafluoroborato N-[(1H-benzotriazol-1-il)(dimetilamino)metilen]-N-metilmetanaminio, hexafluorofosfato de 7-azabenzotriazol-1-

iloxitris(pirrolidino)-fosfonio. Preferiblemente la reacción puede ser llevada a cabo en presencia de una base, por ejemplo, una amina orgánica, por ejemplo, amina de isopropil N-etilo, N-metilmorfolina, trietilamina o tribencil amina, y en presencia de
5 un nucleófilo auxiliar, por ejemplo, 1-hidroxibenzotriazol, N-hidroxisuccinimida, 3-hidroxi-3,4-dihidro-1,2,3-benzotriazina-4-ona o 1-hidroxi-7-azabenzotriazol.

La ciclización de un compuesto de la fórmula II, III o IV necesita dirigirse hacia un compuesto de la fórmula I en forma
10 protegida, es decir un compuesto de la fórmula I en donde uno o más o todos los grupos amino presentes en la molécula están protegidos por un grupo protector amino. Ejemplos de dichos compuestos son por ejemplo, ciclo[(2R,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-],
15 ciclo[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-], y ciclo[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-].

Los grupos protectores amino pueden ser removidos de
20 acuerdo con métodos conocidos en la técnica, por ejemplo división, por ejemplo, con ácido trifluoroacético; 3M HCl, EtOAc, Me₃CCl, fenol, CH₂Cl₂; 10% H₂SO₄, dioxano; bromocatecloroborano.

Los compuestos de la fórmula II, III y IV o sales de los mismos son novedosos y forman parte de la invención. Estos compuestos pueden ser preparados enlazando juntos a través de un enlace de amida dos unidades de péptido, cada uno de estos
5 conteniendo por lo menos un aminoácido en forma protegida o no protegida, en donde el enlace de amida es una forma deseada de la secuencia de aminoácido se obtiene según definida en la fórmula II, III, o IV.

La síntesis puede ser realizada de acuerdo con métodos
10 conocidos en la técnica, por ejemplo, en solución o a través de síntesis de fase sólida, iniciando con el primer aminoácido. En la síntesis de fase sólida, el primer aminoácido está unido a una resina, por ejemplo, una resina en base a poliestireno comercialmente disponible a través de un enlazador adecuado,
15 por ejemplo, un enlazador el cual es divisible bajo condiciones de fusión para mantener la protección de cadena lateral intacta, por ejemplo, un enlazador en base al tritilo opcionalmente substituido, por ejemplo, ácido 4-(hidroxil-difenil-metil)benzoico, en donde uno de los grupos fenilo puede estar opcionalmente
20 substituido, por ejemplo, por Cl. La construcción de la cadena de péptido deseada, ya sea en solución o a través de síntesis de fase sólida, puede ser efectuada en una forma convencional, por ejemplo, utilizando aminoácidos en donde los grupos amino

terminal son Fmoc-protegidos, los grupos amino de cadena lateral estuvieron presentes estando protegidos con un diferente grupo protector amino, por ejemplo, Boc o CBO.

Cuando la síntesis se efectúa a través de síntesis de fase
5 sólida, el péptido construido entonces es removido de la resina de acuerdo con métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, con ácido acético; ácido trifluoroacético; ácido acético-trifluoroetanol-diclorometano; hexafluoroisopropanol en diclorometano. Un procedimiento preferido para remover el
10 péptido construido de la fase sólida, por ejemplo, cuando se utiliza un enlazador basado en tritilo no clorado, es por ejemplo, el tratamiento con metanol/diclorometano, preferiblemente a temperatura ambiente, o un tratamiento con cetona, por ejemplo, etil metil cetona, preferiblemente a una temperatura de
15 aproximadamente 50°C.

Ejemplos de compuestos de la fórmula II, III y IV son por ejemplo,

H-Lys(Boc)-D-Tyr(Bzl)-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-
Pro-Phg-D-Trp(Boc)-OH

20 H-Lys(Boc)-D-Tyr(Bzl)-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-
Pro-Phg-D-Trp-OH

H-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-
Lys(Boc)-Phe-OH

H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-OH

H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-OH

- 5 H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)Lys(Boc)-OH.

Los compuestos de la formula II, III o IV pueden existir en la forma de sal como se describió anteriormente para los compuestos de la fórmula I.

- 10 Los compuestos de la fórmula I son agonistas de somatostatina valiosos, y tienen propiedades farmacológicas interesantes como se describen en por ejemplo, WO 97/01579 o WO 02/10192, el contenido de los mismos describen las propiedades farmacológicas que están siendo incorporadas en la
- 15 presente por referencia. Un compuesto preferido es ciclo[{(4-NH₂-C₂H₄-NH-CO-O)-Pro}-Phg-DTrp-Lys-Tyr(4-Bencil)-Phe], o una sal del mismo. Las sales preferidas son el aspartato (mono o di-aspartato) o pamoato.

- Cuando se utiliza el procedimiento de la invención, una
- 20 ciclización produce el péptido lineal correspondiente de la fórmula II, III o IV más alto que 70% puede ser obtenido.

Los siguientes ejemplos son ilustrativos de la invención. Todas las temperaturas están en °C.

Las siguientes abreviaturas se utilizaron:

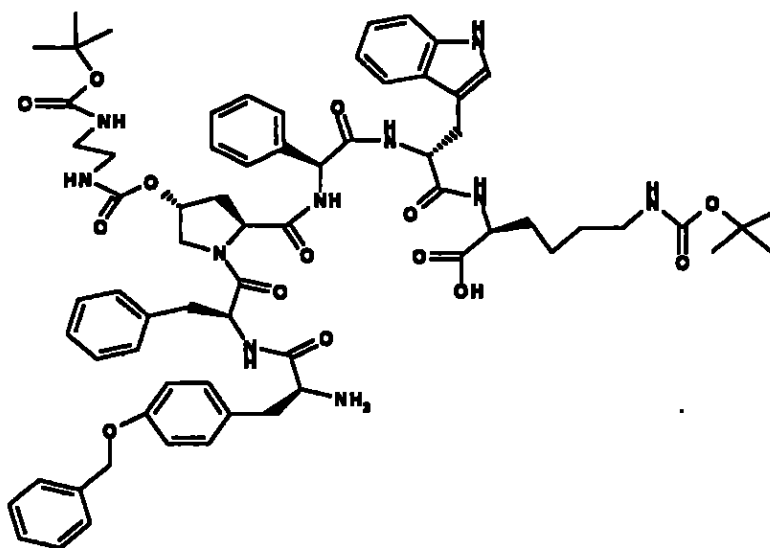
- Bzl =Bencilo
- DAEM =dietilamina
- DICI =carbodiimida de diisopropilo
- 5 DMF =N,N-dimetilformamida
- DPPA =azida de difenilfosforilo
- EDIPA =amina de N-etil diisopropilo
- HBTU =hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-
- N,N,N'-N'-tetrametiluronio
- 10 HOBT =1-hidroxi-benzotriazol
- IPA =alcohol isopropilico
- Phg =fenilglicina
- RT =temperatura ambiente
- TBME =éter ter-butilmetílico

15

EJEMPLO 1

[H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp-Lys(Boc)-OH]

20

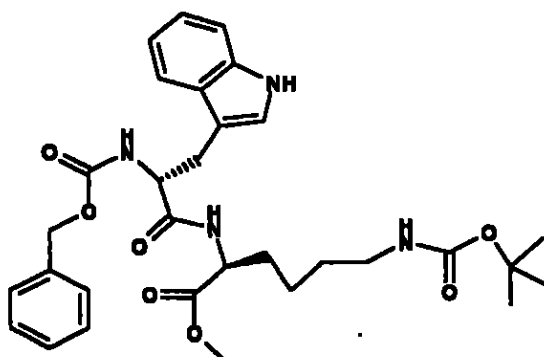


Se disolvieron 10.4 g de (Fmoc-Tyr(Bzl)-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OH) en 100 ml de DMF. Se agregaron 2.0 ml de dietilamina a temperatura ambiente y la agitación continuó durante 4 horas a temperatura ambiente. La solución amarilla clara se evaporó a 40°C. Al residuo se le agregaron 150 ml de acetato de isopropilo. Se sembraron y agitaron durante 18 horas a temperatura ambiente, se filtraron y se lavaron con 20 ml de acetato de isopropilo. Se secaron a 40°C. HPLC 87.5% b.a. (17.6 minutos); ESI-MS: 1287.5 (M+Na)⁺; ¹H-NMR(DMSO) (δ, DMSO): 1.14(2H, m), 1.33 (2H, m), 1.37 (18H, m), 1.53 (1H, m), 1.64 (1H, m), 2.06 (1H, m), 2.22 (1H, m), 2.78-3.15 (12H, m), 3.38 (1H, m), 3.79 (2H, br), 4.12 (1H, m), 4.55-4.75 (3H, m), 5.06 (2H, s), 5.15 (1H, d), 5.54 (1H, d), 6.75 (1H, br), 6.83 (1H, br), 6.89 (2H, d), 6.94 (1H, t), 6.99 (1H, s), 7.43 (2H, d), 7.10-7.50 (arom.H), 7.59 (1H, d), 8.14 (1H, d), 8.45-8.55 (2H, m), 8.60 (1H, d), 10.71 (1H, br).

El compuesto utilizado como material de partida se preparó como sigue:

20

a) Z-D-Trp-Lys(BOC)- Me

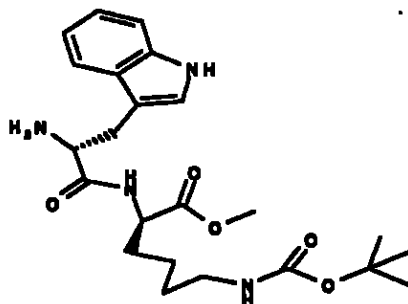


5

A una solución de 23.7 g de Z-D-Trp-OH en 230 ml de THF se agregaron 9.5 g de HOBt a temperatura ambiente. Se formó una solución incolora transparente. Entonces se agregaron 20.8 g de H-Lys(BOC)-OMe a temperatura ambiente seguido por 7.7 ml de N-metilmorfolina. La suspensión fina se enfrió a 0°C y se agregaron 11.4 ml de diisopropilcarbodiimida. Se agitó durante 1 hora a 0°C, después 3 horas a temperatura ambiente. Una solución de 7.0 g de ácido sulfúrico concentrado en 120 ml de agua se agregó a la suspensión. Se extrajo con 150 ml de acetato de etilo, se llevo a cabo la separación de las fases y se lavó la fase orgánica consecutivamente con 100 ml de salmuera saturada, 100 ml de salmuera al 25%, 5% de solución de carbonato ácido de sodio. Después la fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se evaporó. El residuo se recolectó en 250 ml de acetato de isopropilo y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La filtración y el secado a 40°C dieron 40.9 de Z-D-Trp-Lys(BOC)-OMe, una sustancia blanca. Condiciones de

HPLC: MN Nucleosil 100 A/C18; 5 micras; 250 x 4 mm; fase A: 0.24% de ácido fosfórico, fase B acetonitrilo; gradiente: de 20 a 80% B en 30 minutos; longitud de onda 220 nm; velocidad de flujo 1.3 ml/minutos; Temperatura 35°; pureza 97.8% b.a. (24.2 5 minutos).

b) H-D-Trp-Lys(BOC)-OMe



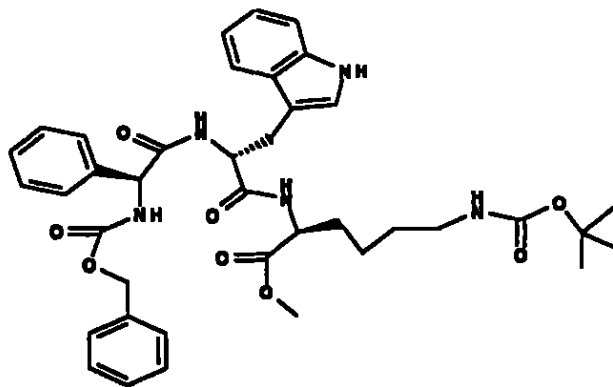
10

Se disolvieron 19.8 g (34.1 mmoles) de Z-D-Trp-Lys(BOC)-OMe en 220 ml de metanol, se agregaron 2.2 g de catalizador Pd/C al 19% y se hidrogenaron a temperatura ambiente. La 15 hidrogenación se terminó después de 1 hora a temperatura ambiente, el catalizador se filtró y el filtrado se evaporó a 30°C; sólido blanco. HPLC: 98.1% b.a. (16.2 minutos).

20

c) Z-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe

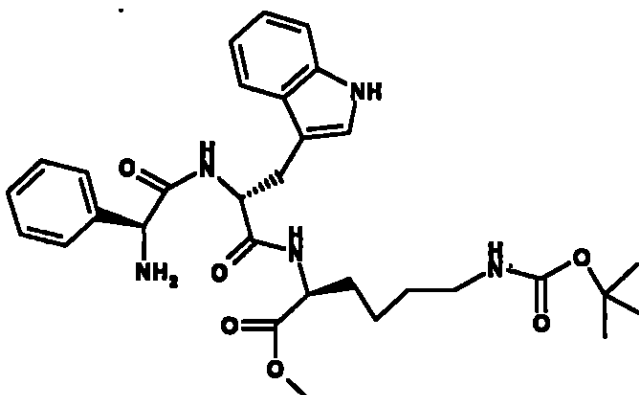
5



Se mezclaron 17.0 g de H-D-Trp-Lys(BOC)-OMe con 80 ml
10 de THF. Se agregaron 9.2 g de Z-Phg-OH a la suspensión de
color gris a temperatura ambiente. Se agregaron 4.4 g de HOBt,
enjuagando con 20 ml de THF. La solución amarilla turbia se
enfrió a 0°C y se agregó una solución de 5.3 ml de DIPEA en 15 ml
de THF dentro de los diez minutos. Se agitó durante 2 horas a
15 0°C, después 2 horas a temperatura ambiente. Después adición
de 3.6 de una solución de ácido sulfúrico en 57 ml de agua, se
extrajo con 70 ml de acetato de etilo, se lavó con agua,
salmuera saturada, 5% de carbonato ácido de sodio, 25% de
salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se evaporó. El residuo blanco
20 se agitó en 125 ml de acetato de isopropilo durante 2 horas a
40°C y la suspensión se filtró. El secado se hizo a 40°C:
sustancia ligeramente amarilla. HPLC: 96.3% b.a. (25.3
minutos).

d) H-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe

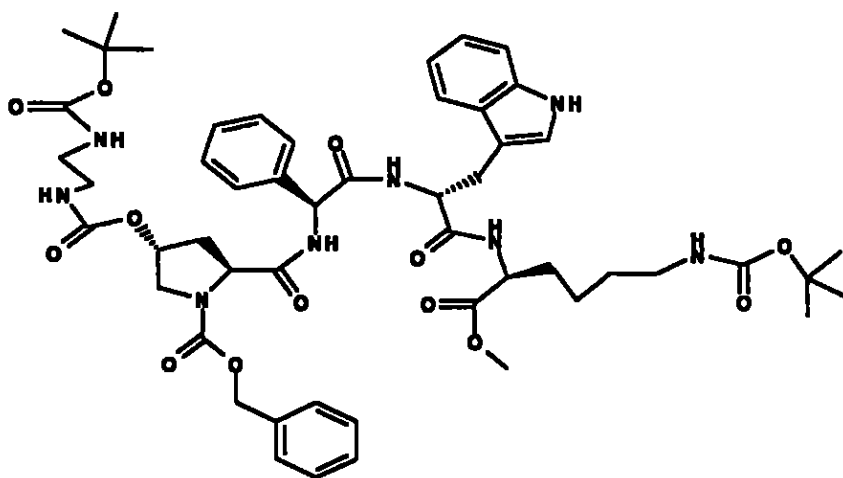
5



Se disolvieron 23.4 g (23.8 mmoles) (Z-Phg-D-Trp-
 10 Lys(BOC)-OMe) en 260 ml de metanol, 2.6 g de Pd/C al 10% se
 agregaron y se hidrogenó a temperatura ambiente y presión
 normal. Después de 3 horas de catálisis se filtró y el filtrado se
 evaporó a 30°C; sólido blanco. HPCL 95.9% b.a. (17.6 minutos)

e) Z-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-
 15 **Trp-Lys(BOC)-OMe**

20

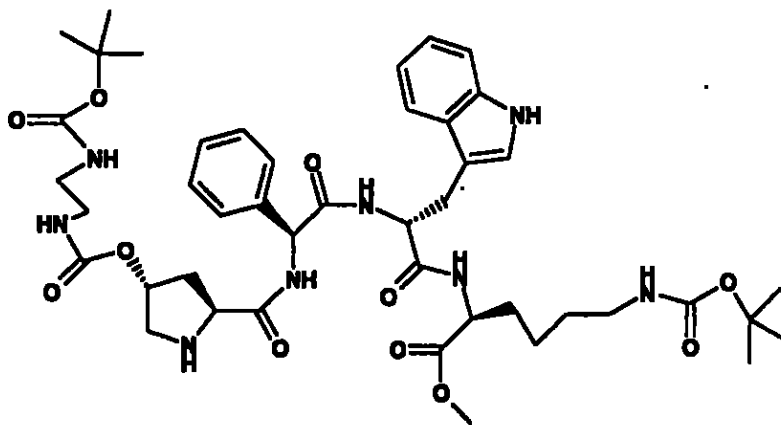


24
22

Se disolvieron 11.1 g de éster bencilico de ácido (2S,4R)-4-(2-ter-butoxicarbonilaminoetilcarbamoiloxi)-pirrolidin-1-carboxílico y 19.0 g de H-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe en 290 ml de THF a temperatura ambiente. Se agregaron 3.32 g de HOBT y la solución turbia se enfrió a 0°C. Una solución de 4.56 ml de DICl en 90 ml de THF se agregó. Agitación durante 24 horas a 0°C. Después se agregó una solución de 2.2 g de ácido sulfúrico en 22 ml de agua a temperatura ambiente, la solución de color ligeramente de ópalo se agitó durante 15 minutos y después se vació gota a gota en 500 ml de agua. La suspensión blanca se evaporó a 50°C hasta que no se destiló más THF. Filtración de la suspensión y lavado del residuo 4 veces con 80 ml de agua cada una, después con 250 ml de metano y después dos veces con totalmente 80 ml de metanol. Secado durante la noche a 50°C. HPLC 91.0% b.a. (19.5 minutos).

f) H-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe

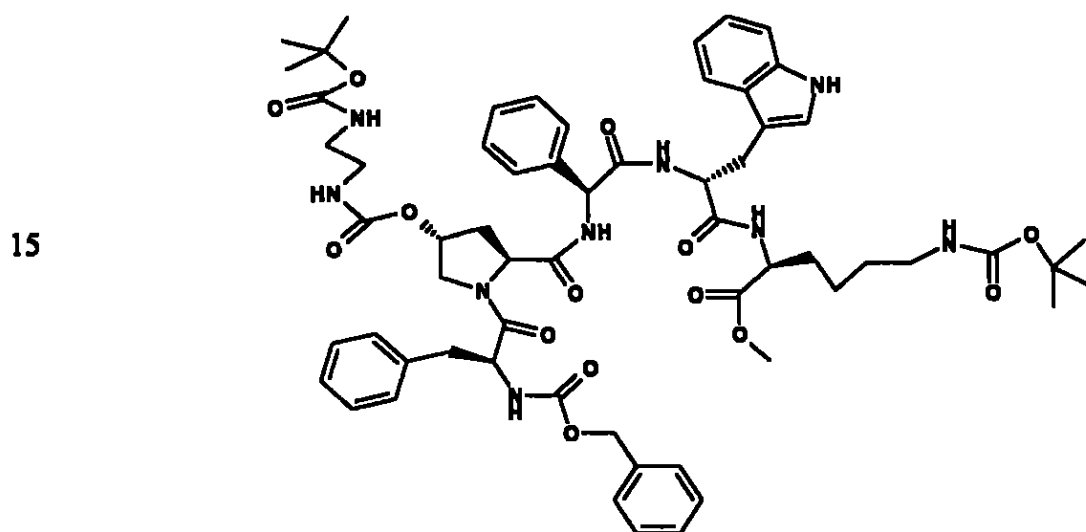
20



13 75

Se disolvieron 22.0 g (12.7 mmoles) de Z-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe en 220 ml de DMF y se agregaron 4.4 g de Pd/C al 10%. Hidrogenación durante 4 horas a temperatura ambiente. Después el catalizador se filtró y el filtrado se agregó a una mezcla de 600 g de hielo y 400 ml de agua. El producto precipitado se filtró y se lavó con agua. El secado a 30°C dio un sólido gris. HPLC: 970.0% b.a. (12.3 minutos).

10 **g) Z-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe**



Se disolvieron 5.1 g de Z-Phe-OH y 16.5 g de H-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe en 250 ml de THF, se agregaron 2.29 g de HOBT y la solución

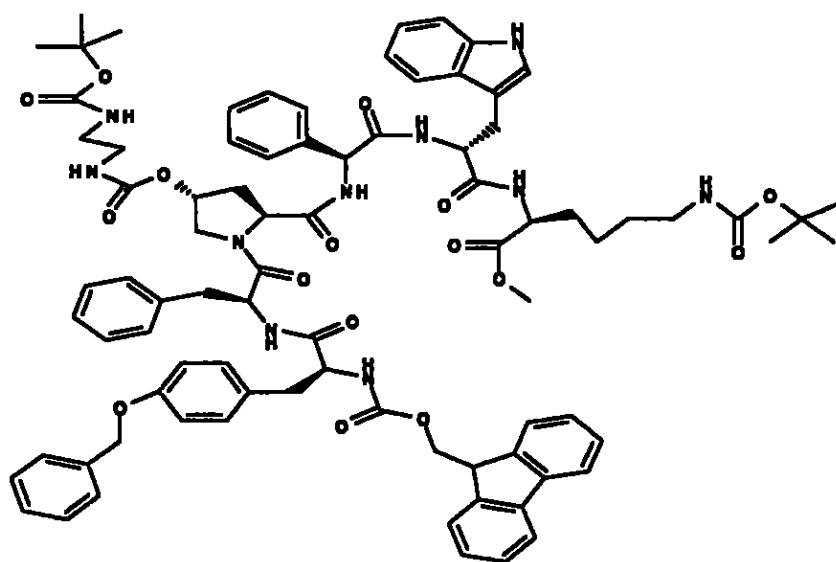
26
24

obscura se enfrió a 0°C. Se disolvieron 3.1 ml de DIOL en 80 ml de THF y se agregaron a la mezcla de reacción a 0°. Agitación durante 24 horas a 0°C. La mezcla de reacción se agregó a 200 ml de ácido sulfúrico al 10%, los sólidos precipitados se filtraron y lavaron con agua. Después de la filtración el residuo se mezcló con 200 ml de metanol y la suspensión se filtró. Secado a 40°C. HPLC: 97.2% b.a. (21.1 minutos).

h) H-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe

10

15

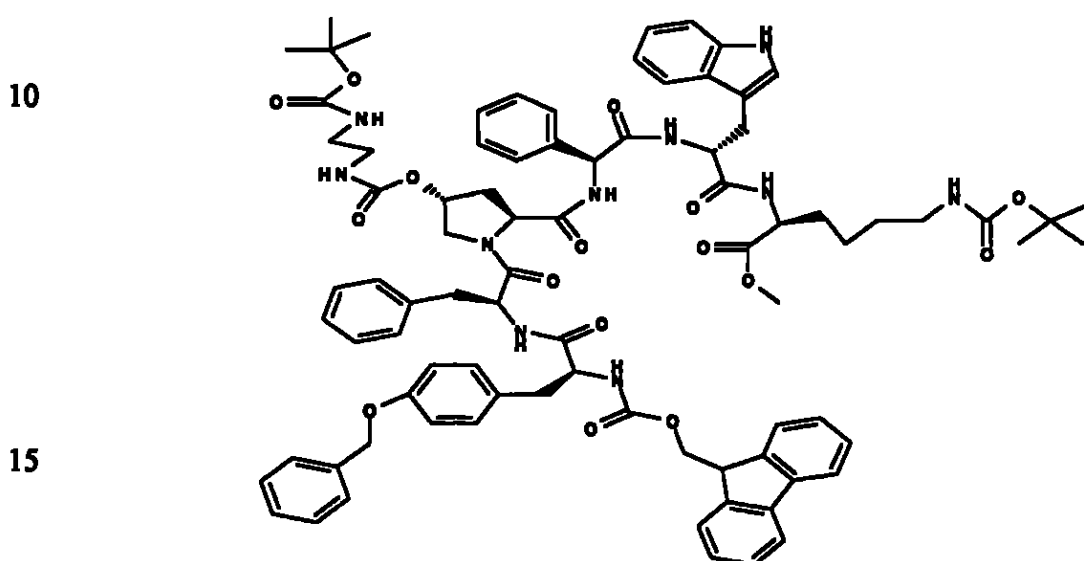


20

Se disolvieron 8.5 g de Z-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe en 180 ml de DMF, se agregaron 4.5 g de Pd/C al 10% y la mezcla se hidrogenó a temperatura ambiente durante 6 horas. Después el

catalizador se filtró y el filtrado se evaporó a 40°C. Al residuo (30 g) se agregaron gota a gota 600 ml de éter t-butil metílico a temperatura ambiente, la suspensión se filtró y el residuo se lavó con 300 ml de TBME. Secado a 40°C. HPLC 93.1% b.a. (16.6 minutos).

i) FOMC-Tyr-(Bzl)-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe

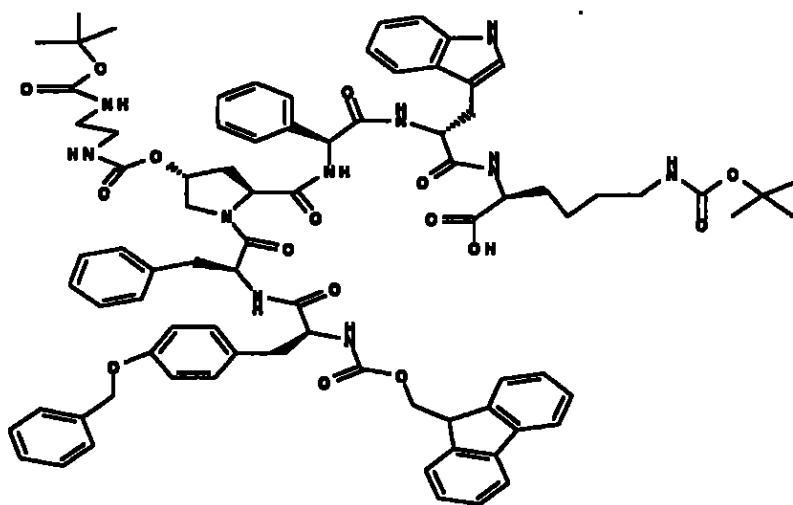


Se suspendieron 6.5 g de H-Phe[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe y 0.86 g de HOBT en 180 ml de THF y se enfriaron a 0°C. Se agregaron 5.5 l de LiBr y después 20 ml de THF. Después 1.18 ml de DIPI disueltos en 50 ml de THF se agregaron y la suspensión oscura se agitó a 0°C durante 24 horas. El baño de enfriamiento se removió y la

agitación continuó durante 24 horas. Después se agregaron una solución de 0.65 g de ácido sulfúrico y 8.5 ml de agua, después 160 ml de agua. Evaporación a 40°, filtración del residuo, lavado con agua hasta que el agua anterior tuvo un pH de 4.0. La torta
 5 del filtro se agitó en 30 ml de metanol, la suspensión se filtró y el residuo se lavó con 10 ml de metanol. El secado a 35° dio una sustancia gris. HPLC 95.4% b.a. (26.0 ml).

10) FOMC-Tyr-(Bzl)-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OH
 10

15



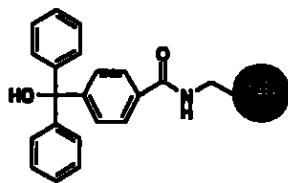
Se suspendieron 13.0 g de FOMC-Tyr-(Bzl)-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp-Lys(BOC)-OMe en
 20 250 ml de THF. Se agregaron 7.3 g de LiBr y 75 ml de THF. Después se agregaron lentamente 8.7 ml de NaOH 1 molar a temperatura ambiente durante 20 minutos. La agitación a

temperatura ambiente continuó por tres horas, después se agregaron 5 ml de NaOH 1 molar adicionales dentro de las siguientes 15 horas. La solución de la reacción final se agregó a una solución de 1.7 de ácido sulfúrico en 34 ml de agua. La mezcla de la fase 2 resultante se agregó a 50 ml de acetato de etilo. Después de la fase de separación la fase orgánica se lavó 3 veces con salmuera y después se evaporó. Al residuo se le agregaron 25 ml de DIF. La solución de DIF clara resultante se agregó a 260 ml de agua. La suspensión resultante se filtró y la torta de filtro se lavó tres veces con agua y se secó durante la noche a 40°. HPLC 71.9% b.a. (28.6 minutos).

EJEMPLO 2

Preparación de resina de poliestireno de aminometilo de 4-(Cloro(difenil)metil)benzoilo

15



La síntesis se llevó a cabo en un reactor de lotes de agitación 1 L operado manualmente equipado con fritura de vidrio sinterizado bajo nitrógeno. La resina de aminometilpoliestireno comercialmente disponible (30.4 g, 41.07 mmoles), pretratada con DMF, se hizo reaccionar a temperatura

ambiente durante la noche con una solución de ácido 4-(hidroxil-
difenil-metil)benzoico (15.0 g, 49.28 mmoles, 1.2 equivalentes),
hidroxibenzotriazol (HOBT) (7.54 g, 49.28 mmoles, 1.2
equivalentes) y DICl (12.43 g, 98.57 mmoles, 2.4 equivalentes)
5 en 140 ml de DMF. El solvente se removió a través de filtración
a través del fritura bajo presión reducida, y la resina se lavó en
turnos cinco veces con DMF y cinco veces con metanol. El
secado al vacío a 40° produjo 44.69 g de resina. La resina se
utilizó como material de partida para la siguiente síntesis de los
10 hexapéptidos.

Procedimiento para la síntesis del péptido lineal protegido

Los hexapéptidos lineales enlazados a resina se
ensamblaron manualmente en la dirección C- a N a través de
15 reacciones de acoplamiento repetitivas en un reactor de lotes de
agitación equipado con fritura de vidrio sinterizado bajo
nitrógeno. La resina de poliestireno de aminometilo 4-
(Cloro(difenil)metil)benzoilo se utilizó como el material de
partida y se llevó a cabo a través de un protocolo estándar que
20 consiste de ciclos repetitivos de desprotección N α (20% p/p de
dietilamina (DAEM) en DMF), lavados repetidos con DMF y IPK
en turnos, y acoplamientos (DIPI/HOBT, DIEPA y DMF) a
temperatura ambiente. Para hacer una ligera modificación de

81
a

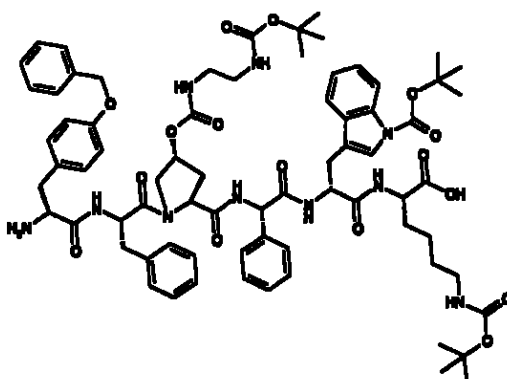
este procedimiento, se toma un cuidado especial para minimizar la racemización de fenilglicina llevando a cabo un acoplamiento de este aminoácido a 0°C. Debido a la división del péptido lineal protegido completamente ensamblado a partir del soporte de su resina, la protección N α -Fmoc es removida.

Fmoc-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-OH se sintetizó como se describen en WO 02/101192. Todos los otros aminoácidos están comercialmente disponibles.

10

Síntesis de H-Tyr-(Bzl)-Phe-[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phg-D-Trp(Boc)Lys(Boc)-OH

15



a) Síntesis de Fmoc-Lys(Boc)-O-resina

La resina de aminometil poliestireno de 4-(Cloro(difenil)metil)benzoilo (20 g, 19.4 mmoles), pretratada con tolueno, se trató durante 4 hors con cloruro de acetilo (7.6 g, 97 mmoles) en tolueno a temperatura ambiente. Después de la filtración, el procedimiento se repitió durante la noche, a partir

20

32
70

de esto, la resina se filtró y se lavó con tolueno y diclorometano. El acoplamiento se realizó con una mezcla de Fmoc-Lys(Boc)-OH (18.2 g, 38.8 mmoles, 2 equivalentes) y N-metilmorfolina (3.94 g, 38.8 mmoles, 2 equivalentes) durante 4 horas a temperatura ambiente. Después de la filtración, la resina se lavó con DMF e IPA tres veces en turnos y se secó al vacío para obtener 26.5 g de un Fmoc-Lys(Boc)-O-resina amarillenta con una capacidad de 0.566 mmoles/g (determinado con el método Fmoc).

10 (Lit. método Fmoc: Meienhofer, J.; Kaki, M; Heimer, E.P.; Lambros, T.J.; Makofske, R.C.; Chang, C.D. Int. J. Pep. Prot. Res. 1979, 13, 35).

b) Resina-O-Lys(Boc)-D-Trp(Boc)-Phg-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-Pro-Phe-Tyr(Bzl)-H

15 Se suspendió Fmoc-Lys(Boc)-O-resina (28.0 g, 19.96 mmoles) en DMF y se trató con una solución de DEAM en DMF (20% p/p) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de ser filtrado, el procedimiento se repitió y después se lavó con DMF e IPA tres veces en turnos, seguido por lavado tres veces
20 con DMF. Este procedimiento de desprotección N α -Fmoc y lavados se repitió después de cada paso de acoplamiento.

El acoplamiento se llevó a cabo con una mezcla de aminoácido, HOBT y DICl el cual se agitó 30 minutos a

temperatura ambiente, y después se agregó a la resina una vez. El acoplamiento se continuó hasta la terminación, es decir, hasta que la desaparición completa de los grupos amino residuales se monitorearon a través de la prueba de Ninhidrina "Kaiser" negativa. Después de haber sido acoplada, la resina se lavó 5 veces con DMF, y entonces estuvo lista para la protección Fmoc.

Los siguientes derivados de aminoácido se acoplaron secuencialmente:

10 **Fmoc-D-Trp(Boc)-OH** (16.81 g, 31.92 mmoles, 2 equivalentes), DIF (100 ml), HOBT (4.93 g, 32.24 mmoles, 2.02 equivalentes), DICl (5.35 g, 42.45 mmoles, 2.66 equivalentes).

Fmoc-Phg-OH (11.92 g, 31.92 mmoles, 2 equivalentes), 70 ml de THF, HOBT (4.93 g, 32.24 mmoles, 2.02 equivalentes),
15 DICl (5.35 g, 42.45 mmoles, 2.66 equivalentes). Se toma especial cuidado para minimizar la racemización de la fenilglicina llevando a cabo el acoplamiento de este aminoácido a 0°C.

Fmoc-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-OH
20 (17.26 g, 31.92 mmoles, 2 equivalentes), 100 ml de DIF, HOBT (4.93 g, 32.24 mmoles, 2.02 equivalentes), DICl (5.35 g, 42.45 mmoles, 2.66 equivalentes).

Fm c-Phe-OH (12.36 g, 31.92 mmoles, 2 equivalentes),

100 ml de DIF, HOBT (4.93 g, 32.24 mmoles, 2.02 equivalentes),
 DICl (5.35 g, 42.45 mmoles, 2.66 equivalentes).

Fmoc-Tyr(Bzl)-OH (15.75 g, 31.92 mmoles, 2
 equivalentes), 100 ml de DIF, HOBT (4.93 g, 32.24 mmoles, 2.02
 5 equivalentes), DICl (5.35 g, 42.45 mmoles, 2.66 equivalentes).

Antes de la división del péptido lineal protegido
 completamente ensamblado de su soporte de resina, la
 protección N α -fmoc se removió tratando la resina con una
 solución de DAEM en DMF (20% p/p) durante 10 minutos a
 10 temperatura ambiente. Después de haber sido filtrada, el
 procedimiento se repitió y se lavó con DMF e IPA tres veces en
 turnos, seguido por lavados 3 veces con DMF.

(El secado de la resina al vacío a 40°C dio una resina
 amarillenta).

15 *c) División del péptido lineal de su soporte de resina:*

***H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)]-
 Pro-Phg-D-Trp(Boc)Lys(Boc)-OH***

Ca) Método con AcOH/CH₂Cl₂/H₂O 45/45/5 p/p/p

La resina del péptido lineal protegido completamente
 20 ensamblado **O-Lys(Boc)-D-Trp(Boc)-Phg-(2S,4R)-4-(Boc-NH-
 CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phe-Tyr(Bzl)-H** (24.5 g) se suspendió en
 una mezcla de 150 ml de AcOH/CH₂Cl₂/H₂O 45/45/5 p/p/p y se
 agitó durante una hora a temperatura ambiente, se filtró y se

lavó con CH_2Cl_2 . El filtrado se evaporó a sequedad, el residuo se agitó durante una hora con una mezcla de TBME y heptano 7/3 p/p, se filtró y se secó al vacío. Se obtuvo un sólido amarillento; contenido: 93.5% HPLC g/g; pureza 91.6% (F)-HPLC y 2.5% (F)-HPLC D-Phg-Epímero.

La resina de poliestireno de aminometilo(4-(Cloro(difenil)metil)benzoilo se lavó 3 veces con metanol y se secó y se pudo volver a utilizar.

Cb) Método con CH_2Cl_2 y MeOH.

10 La resina del péptido lineal protegido completamente ensamblada O-Lys(Boc)-D-Trp(Boc)-Phg-(2S,4R)-4-(Boc-NH- $\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CO-O}$)-Pro-Phe-Tyr(Bzl)-H (6.2 g) se suspendió en una mezcla de 115 ml de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ 1/1 p/p y se agitó durante tres días a temperatura ambiente, se filtró y se lavó con 15 CH_2Cl_2 . El filtrado se evaporó a sequedad, el residuo se agitó durante una hora con una mezcla de TBME y heptano 7/3 p/p, se filtró y se secó al vacío. Contenido: 93.5% HPLC g/g; pureza 92.6% (F)-HPLC y 1.1% (F)-HPLC D-Phg-Epímero.

La resina de (resina de aminometil poliestireno (4-(Cloro(difenil)metil)benzoilo) se lavó tres veces con metanol y 20 se secó puede volverse a utilizar.

Cc) Método con etil metil cetona/MeOH

La resina del péptido lineal protegido completamente

ensamblada O-Lys(Boc)-D-Trp(Boc)-Phg-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phe-Tyr(Bzl)-H (4.0 g) se suspendió en una mezcla de 24 ml de dietil metil cetona 1/1 p/p y se agitó durante 15 horas a 50°C, se filtró y se lavó con MeOH. El
5 filtrado se evaporó a sequedad, el residuo se agitó durante una hora con una mezcla de TBME y 60 ml de heptano 7/3 p/p, se filtró y se secó al vacío. Contenido: 88.1% HPLC g/g; pureza 95.2% (F)-HPLC y 1.8% (F)-HPLC D-Phg-Epímero.

La resina de (resina de aminometil poliestireno (4-
10 (Cloro(difenil)metil)benzoilo) se lavó tres veces con metanol y se secó puede volverse a utilizar.

Purificación

Para propósitos analíticos, los péptidos lineales se purificaron a través de cromatografía RP.

15 *Caracterización*

La estructura de una muestra analítica purificada a través de cromatografía RP se confirmó mediante FAB-MS, LC-MS, y datos NMR (DMSO en ppm, 1.16, 1.34, 1.55, 1.61, (3H), 1.66, 2.05, 2.20, 2.51, 2.83 (2H), 2.91, 2.96, 2.98, 3.02, 3.41, 3.78, 4.13, 4.61, 5.13, 5.51, 6.74, 6.83, 6.88, (2H), 7.01, (2H), 7.11
20 (2H), 7.38, 7.42 (2H), 7.49, 7.72, 8.01, 8.29, 8.48, 8.62, 8.75.) La configuración del aminoácido se determinó a través de análisis de aminoácido: el compuesto se hidrolizó bajo

condiciones ácidas, se convirtió a derivados y la configuración de cada aminoácido individual se asignó a través de cromatografía de gas enantioselectiva/espectrometría de masas de ionización química.

- 5 Una prueba adicional de la estructura es la conversión de los diferentes péptidos lineales para caracterizar bien el péptido cíclico.

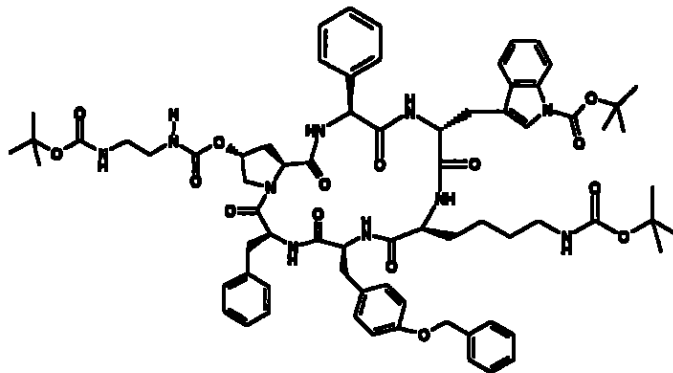
Los siguientes compuestos se sintetizaron de acuerdo con el procedimiento descrito.

- 10 H-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-OH;
 H-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp-OH
 H-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)Tyr(Bzl)-OH;
 15 H-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Try(Bzl)-OH;
 H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-DPhg-DTrp(Boc)-OH.

20

EJEMPLO 3

Ciclización de los péptidos protegidos lineales para sintetizar Ciclo[(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-

Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-1

Ciclisación de H-Phe-(2S,4R) -4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-

10 *Pro-Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-OH*

Método de Azida

Para la ciclisación, el fragmento lineal (2.5 g, 1.83 mmoles) se disolvió en 391 ml de DMF, se enfrió a -5°, se trató con EDIPA (0.47 g, 3.66 mmoles, 2 equivalentes) y DPPA (0.75 g, 2.75 mmoles, 1.5 equivalentes) y se agitó a temperatura ambiente hasta la terminación (aproximadamente, 20 horas). Se agregaron 391 ml de agua gota a gota a la mezcla de reacción, la precipitación se filtró y se lavó con agua hasta que no hubo azida detectable. Se obtuvieron 4.9 g sólido blanco húmedo en agua (R_f de HPLC idéntico a referencia), el cual se utilizó en la reacción de desprotección sin purificación adicional. El compuesto se caracterizó por comparación directa con un compuesto de referencia a través de HPLC.

39
57

Ciclisación de H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R) -4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)Lys(Boc)-OH

a) Método HBTU a

5 Para la ciclisación, el fragmento lineal (6.0 g, 3.5 mmoles) se disolvió en 780 ml de DMF, se enfrió a -5°, se trató con EDIPA (1.13 g, 8.75 mmoles, 2.5 equivalentes), HOBT (1.18 g, 8.75 mmoles, 2.5 equivalentes), HBTU (3.3 g, 8.78 mmoles, 25. equivalentes) y se agitó a temperatura ambiente hasta la
10 terminación (aproximadamente, 2 horas). Se agregaron 391 ml de agua gota a gota a la mezcla de reacción a temperatura ambiente, la precipitación se filtró y se lavó con agua y heptano y se secó al vacío durante la noche. Se obtuvieron 5.4 g sólido amarillo blanco. El compuesto se caracterizó por comparación
15 directa con un compuesto de referencia a través de HPLC. Contenido 55% p/p HPLC, pureza 78% (A%)-HPLC.

b) Método HBTU b

 Para la ciclisación, el fragmento lineal (6.0 g, 4.16 mmoles) se disolvió en 60 ml de DMF se vació gota a gota en
20 una mezcla de HOBT (4.15 g, 10.4 mmoles, 2.5 equivalentes), HBTU (4.15 g, 10.4 mmoles, 2.5 equivalentes) y EDIPA (1.41 g, 10.4 mmoles, 2.5 equivalentes) en 135 ml de DMF a -5° y se agitó a esa temperatura hasta la terminación (aproximadamente,

2 horas). Se agregaron 559 ml de agua gota a gota a la mezcla de reacción a temperatura ambiente, la precipitación se filtró y se lavó con agua y heptano y se secó al vacío durante la noche. Se obtuvo un sólido amarillo blanco. El compuesto se caracterizó por comparación directa con un compuesto de referencia a través de HPLC. Contenido 77% p/p HPLC, pureza 84% (A%)-HPLC.

Los siguientes péptidos lineales se ciclizaron de acuerdo con el procedimiento anterior:

- 10 H-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-OH;
 H-Lys(Boc)-Tyr(Bzl)-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp-OH
 H-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp(Boc)-
 15 Tyr(Bzl)-Phe-OH;
 H-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Phg-D-Trp(Boc)-Lys(Boc)-Try(Bzl)-OH;
 H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-DPhg-DTrp(Boc)-OH.

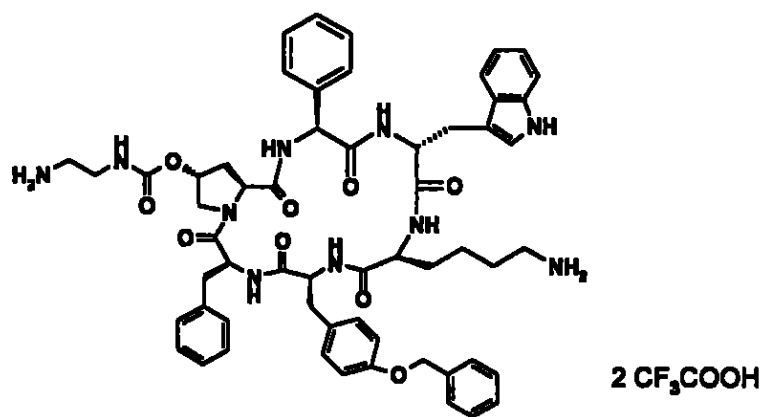
20

EJEMPLO 4

Síntesis de sal de ácido trifluoroacético Ciclo[(2S,4R) -4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-D-Trp-Lys-Tyr(Bzl)-Phe-]

41
39

33

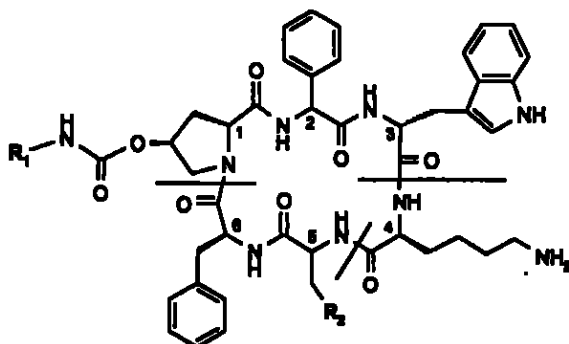


Para la desprotección completa, el residuo (1.5 g, 0.79 mmoles) se disolvió a 0° en TFA/H₂O 95:5 (8.3 ml) la mezcla se
10 agitó en frío durante 30 minutos. La mezcla de reacción fría se vació gota a gota en una mezcla de 29 ml de TBME y 13 ml de heptano a temperatura ambiente se agitó durante 2 horas. La precipitación se filtró, se lavó con TBME/Heptano 1:1 (p/p) y se secó al vacío. Se obtuvo un sólido de color beige, contenido
15 53% p/p HPLC, pureza: 79 (A%)-HPLC.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para producir un compuesto de la fórmula

5



10

en donde

R₁ es alquileo de 2 a 6 átomos de carbono-NR₃R₄, alquileo de 2 a 6 átomos de carbono-guanidina, o alquileo de 2 a 6 átomos de carbono-COOH en donde cada uno de R₃ y R₄ es independientemente H, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, ω-hidroxi-alquileo de 2 a 4 átomos de carbono o acilo o R₃ y R₄ forman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos un grupo heterocíclico, el cual puede comprender un átomo heterogéneo adicional, y

20

R₂ es Z₁-CH₂-R₅, -CH-CO-O-CH₂-R₅,



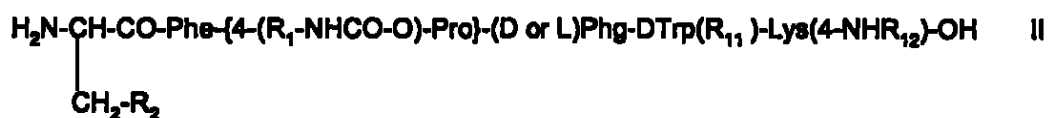
13
A1

en donde Z_1 es O o S y R_5 es fenilo opcionalmente
 substituido,

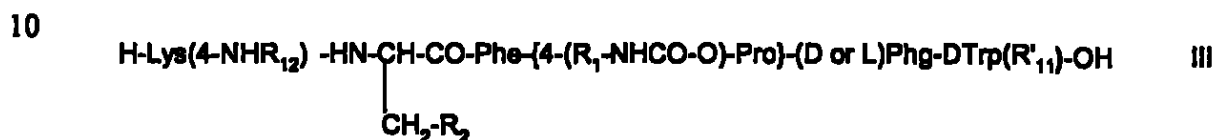
o una sal del mismo,

que comprende la ciclización de un análogo de somatostatina

5 lineal de la fórmula II



o la fórmula III



o la fórmula IV



en donde R_1 y R_2 son como se definieron,

cada uno de R_{11} y R_{12} , independientemente, es un grupo
 protector amino,

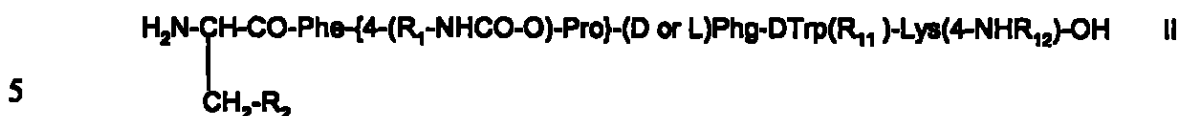
20 por lo que cuando R_1 comprende un NH_2 terminal, este NH_2
 terminal también está protegido por el grupo protector amino,

y en donde la remoción requerida del grupo(s) protector,

y la recuperación de un compuesto de la fórmula I de esta
 manera se obtiene en forma libre o en la forma de sal.

44
42

2. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende la ciclización de un análogo de somatostatina lineal de la fórmula II



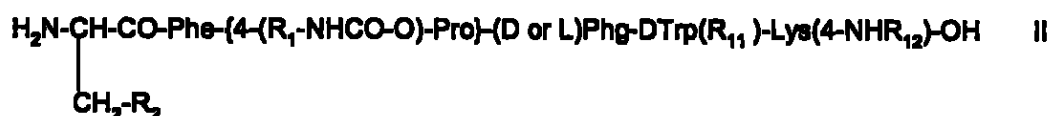
en donde R_1 es $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}_3\text{R}_4$, R_2 es 4-benciloxi-fenilo, y R_3 , R_4 , R_{11} y R_{12} son como se definieron en la reivindicación 1,

por lo cual R_1 comprende un NH_2 terminal, esta NH_2 terminal también está protegida por un grupo protector amino,

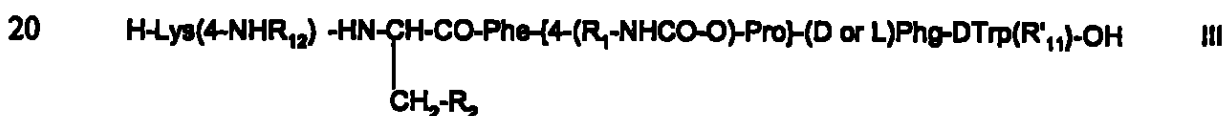
y en donde la remoción requerida del grupo(s) protector,

y la recuperación de un compuesto de la fórmula I de esta manera se obtiene en forma libre o en la forma de sal en donde R_1 es $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NR}_3\text{R}_4$, R_2 es 4-benciloxi-fenilo.

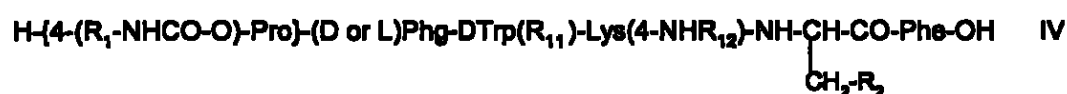
3. Un compuesto de la fórmula II



o la fórmula III



o la fórmula IV



en donde R_1 y R_2 son como se definieron en la reivindicación 1,
cada uno de R_{11} y R_{12} , independientemente, es un grupo
protector amino,

5 por medio del cual cuando R_1 comprende un NH_2 terminal,
este NH_2 terminal también está protegido por el grupo protector
amino,

o una sal del mismo.

4. Un compuesto de la fórmula II de acuerdo con la
10 reivindicación 3, en donde R_1 es $-CH_2-CH_2-NR_3R_4$, R_2 es 4-
benciloxi-fenilo, y cada uno de R_{11} y R_{12} , independientemente,
es un grupo protector amino, por medio del cual cuando R_1
comprende un NH_2 terminal, este NH_2 terminal también está
protegido por el grupo protector amino, o una sal del mismo.

15 5. Un compuesto de la fórmula II de acuerdo con la
reivindicación 3, que se selecciona de H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-
(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-DPhg-DTrp(Boc)-Lys(Boc)-OH,
H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-
DTrp-Lys(Boc)-OH y
20 H-Tyr(Bzl)-Phe-(2S,4R)-4-(Boc-NH-CH₂-CH₂-NH-CO-O)-Pro-Phg-
D-Trp(Boc)Lys(Boc)-OH o una sal del mismo.

6. Un procedimiento para la producción de un compuesto
de la formula II, III o IV como se definió en la reivindicación 3,

46
44

que comprende enlazar juntos a través de un enlace de amida
dos unidades de péptido, cada uno de ellos contiene por lo
menos un aminoácido en forma protegida o no protegida, en
done la unión de amida está en tal forma que se obtiene la
5 secuencia de aminoácido deseada según definida en la fórmula
II, III o V, y en donde se requiere la remoción de por lo menos
un grupo protector, y

recuperar un compuesto de la fórmula II, III o IV de esta
manera obtenido en forma libre o en forma de sal.

10

15

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
17 February 2005 (17.02.2005)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/014624 A2

- (51) International Patent Classification⁷: C07K 7/00 (74) Agent: GRUBB, Philip; Novartis AG, Corporate Intellectual Property, CH-4002 Basel (CH).
- (21) International Application Number: PCT/EP2004/008850 (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (22) International Filing Date: 6 August 2004 (06.08.2004)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data: 0318682.2 8 August 2003 (08.08.2003) GB
- (71) Applicant (for all designated States except AT, US): NOVARTIS AG [CH/CH]; Lichtstrasse 35, CH-4056 Basel (CH).
- (71) Applicant (for AT only): NOVARTIS PHARMA GMBH [AT/AT]; Brunner Strasse 59, AT-1230 Vienna (AT).
- (72) Inventors; and
- (75) Inventors/Applicants (for US only): HELLSTERN, Heribert [DE/DE]; Im Bachacker 9, 79423 Heitersheim (DE). PACHINGER, Werner [AT/CH]; Markgräflerstrasse 75, CH-4057 Basel (CH). PRIKOSZOVICH, Walter [AT/CH]; Längeweg 11, CH-4134 Schönenbuch (CH). WIETFFELD, Bernhard [DE/DE]; Dicheleweg 27, 79588 Bfingen-Kirchen (DE).
- (84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- Published:
— without international search report and to be republished upon receipt of that report
- For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PREPARATION OF SOMATOSTATIN PEPTIDES

(57) Abstract: Provided is a process for preparing cyclic somatostatin analogues and the linear intermediates used in the process.

WO 2005/014624 A2

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference ON/4-33308A	FOR FURTHER ACTION see Form PCT/ISA/220 as well as, where applicable, Item 5 below.	
International application No. PCT/EP2004/008850	International filing date (day/month/year) 06/08/2004	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 08/08/2003
Applicant NOVARTIS AG		

This International Search Report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This International Search Report consists of a total of 5 sheets.



It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. Basis of the report

- a. With regard to the language, the international search was carried out on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.



The international search was carried out on the basis of a translation of the international application furnished to this Authority (Rule 23.1(b)).



With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☒

Certain claims were found unsearchable (See Box II).

3. ☐

Unity of invention is lacking (see Box III).

4. With regard to the title,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established by this Authority to read as follows:

5. With regard to the abstract,



the text is approved as submitted by the applicant.



the text has been established, according to Rule 36.2(b), by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.

6. With regard to the drawings,

- a. the figure of the drawings to be published with the abstract is Figure No. _____



as suggested by the applicant.



as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure.



as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention.



none of the figures is to be published with the abstract.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/008850

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07K14/655 C07K7/64

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/10192 A (NOVARTIS ERFINDE VERWALT GMBH ; ALBERT RAINER (CH); LEWIS IAN (CH); NOV) 7 February 2002 (2002-02-07) Abstract; p. 3, l. 18-27; p. 4, l. 15; example 1-3	1-6
A	HUANG ZIWEI ET AL: "Main chain and side chain chiral methylated somatostatin analogs: syntheses and conformational analyses" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US, vol. 114, 1992, pages 9390-9401, XP002189302 ISSN: 0002-7863 Abstract; Table 1, compound IV; Figure 1	1-6

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

1 June 2005

Date of mailing of the international search report

13. 07. 2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Lopez Garcia, F

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2004/008850

30
AB

Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 8.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

see additional sheet

1. ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☒ No protest accompanied the payment of additional search fees.

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 5 (completely); 1-4, 6 (partially)

Compounds of formula II , their preparation process and
their use in the preparation of the compounds of formula I.
—

2. claims: 1-4, 6 (partially)

Compounds of formula III, their preparation process and
their use in the preparation of the compounds of formula I.
—

3. claims: 1-4, 6 (partially)

Compounds of formula IV, their preparation process and their
use in the preparation of the compounds of formula I.
—

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP2004/008850

52
50

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0210192	A	07-02-2002	AU 8977801 A	13-02-2002
			BR 0112859 A	01-07-2003
			CA 2416293 A1	07-02-2002
			CN 1446229 A	01-10-2003
			CZ 20030288 A3	14-05-2003
			WO 0210192 A2	07-02-2002
			EP 1307486 A2	07-05-2003
			HU 0300684 A2	29-09-2003
			JP 2004505095 T	19-02-2004
			MX PA03000991 A	09-06-2003
			NO 20030484 A	19-03-2003
			NZ 523836 A	27-08-2004
			PL 358718 A1	09-08-2004
			SK 1212003 A3	05-08-2003
			US 2005014686 A1	20-01-2005
			ZA 200300406 A	02-04-2004

PATENT COOPERATION TREATY

53
51

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

see form PCT/ISA220

WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY (PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing
(day/month/year) see form PCT/ISA210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2004/008850

International filing date (day/month/year)
06.08.2004

Priority date (day/month/year)
08.08.2003

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
C07K14/655, C07K7/64

Applicant
NOVARTIS AG

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☒ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☒ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☐ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA"). However, this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 68.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of three months from the date of mailing of Form PCT/ISA220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office
D-80288 Munich
Tel. +49 89 2369 - 0 Tx: 523656 apmu d
Fax: +49 89 2369 - 4465

Authorized Officer

Lopez García, F

Telephone No. +49 89 2369-2171



**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No. **PCT/EP2004/008850**

Box No. 1 Basis of the opinion

1. With regard to the language, this opinion has been established on the basis of the international application in the language in which it was filed, unless otherwise indicated under this item.
 - ☐ This opinion has been established on the basis of a translation from the original language into the following language , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rules 12.3 and 23.1(b)).
2. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☐ a sequence listing
 - ☐ table(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☐ in written format
 - ☐ in computer readable form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☐ contained in the international application as filed.
 - ☐ filed together with the international application in computer readable form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
3. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
4. Additional comments:

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2004/008850

36
53

Box No. II Priority

1. ☐ The following document has not been furnished:

☐ copy of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 43bis.1 and 66.7(a)).

☐ translation of the earlier application whose priority has been claimed (Rule 43bis.1 and 66.7(b)).

Consequently it has not been possible to consider the validity of the priority claim. This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date is the claimed priority date.

2. ☐ This opinion has been established as if no priority had been claimed due to the fact that the priority claim has been found invalid (Rules 43bis.1 and 64.1). Thus for the purposes of this opinion, the international filing date indicated above is considered to be the relevant date.

3. ☒ The International Searching Authority has not been able to consider the validity of the priority claim because a copy of the earlier application whose priority has been claimed was not available to the International Searching Authority at the time that the search was conducted (Rule 17.1). This opinion has nevertheless been established on the assumption that the relevant date is the claimed priority date.

4. Additional observations, if necessary:

Box No. IV Lack of unity of invention

1. ☒ In response to the invitation (Form PCT/ISA/206) to pay additional fees, the applicant has:

☒ paid additional fees.

☐ paid additional fees under protest.

☐ not paid additional fees.

2. ☐ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose not to invite the applicant to pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rule 13.1, 13.2 and 13.3 is

☐ complied with

☒ not complied with for the following reasons:

see separate sheet

4. Consequently, this report has been established in respect of the following parts of the international application:

☒ all parts.

☐ the parts relating to claims Nos.

5/6

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY**

International application No.
PCT/EP2004/008850

**Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or
Industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	1-6
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	
	No: Claims	1-6
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-6
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Re Item I

Basis of the report

1. The applicant has paid additional fees for inventions 2 and 3. Therefore, this report relates to all the inventions cited by the ISA, namely, inventions 1-3.

Re Item IV

Lack of unity of invention

3. This Authority considers that there are 3 inventions covered by the claims indicated as follows:

Invention 1: Claims 5 (completely); 1-4, 6 (partially)

Compounds of formula II, their preparation process and their use in the preparation of the compounds of formula I.

Invention 2: Claims 1-4, 6 (partially)

Compounds of formula III, their preparation process and their use in the preparation of the compounds of formula I.

Invention 3: Claims 1-4, 6 (partially)

Compounds of formula IV, their preparation process and their use in the preparation of the compounds of formula I.

The reasons for which the inventions are not so linked as to form a single general inventive concept; as required by Rule 13.1 PCT, are as follows:

Rule 13.1 PCT demands that the "international application shall relate to one invention only or to a group of inventions so linked as to form a single general inventive concept".

Rule 13.2 PCT demands that Rule 13.1 PCT shall be fulfilled only when there is a technical relationship among those inventions involving one or more of the same or corresponding special technical features. The expression "special technical features" shall mean those technical features that define a contribution which each of the claimed inventions, considered as a whole, makes over the prior art.

Each of the aforementioned inventions is characterised by an individual "special technical feature"; there is no technical interrelation between the said 3 inventions.

In the light of the description the technical problem to be solved could be considered the provision of a process for the preparation of the compound of formula I.

This problem has been solved by a plurality of solutions as defined in claim 1 in function of the different starting compounds II-IV.

This plurality of solutions might, a priori, be considered as satisfying the requirements of unity in which the provision of processes for the preparation of compounds of formula I is the special technical feature linking these different solutions.

However, at the priority date of the applications processes for the preparation of compounds of formula I were already known in the art:

(D1) WO02010192 provides the compound
PHE-{4(NHR1-C2H4-NH-CO-O)PRO}-PHG-D-TRP(R2)-LYS(epsilon-NHR3)TYR(4-BZL)-O
H used for the preparation of cyclic peptides of present formula I.

Therefore, the aforementioned linking concept is not longer present.

The objective problem in view of D1 could therefore be considered to be the provision of alternative processes for the preparation of the compounds of formula I.

Therefore, further unified solutions should relate to groups of compounds sharing a common structural element that could be considered as the special technical feature providing unity. Thus, Rule 13.2 PCT should be considered to be met when the different inventions share a common chemical structure which constitutes a structurally distinctive portion in view of the existing prior art.

The proposed processes characterized by the starting compounds of present formulae II, III or IV do not share a common chemical structure which constitutes a structurally distinctive portion in view of the existing prior art, D1, that could be considered as a

special technical feature within the meaning of Rule 13.2 PCT. Thus, each compound II, III or IV should be considered as defining a different invention.

As no other technical feature can be distinguished which, in the light of the prior art, could be considered as the unifying concept, there is lack of unity between the plurality of inventions.

In conclusion, the groups of the aforementioned inventions are not linked by common or corresponding special technical features and define therefore 3 different inventions.

The application, hence does not meet the requirements of unity of invention as defined in Rules 13.1 and 13.2 PCT.

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

4. Reference is made to the following documents:

- D1: WO 02/10192 A (NOVARTIS ERFIND VERWALT GMBH ; ALBERT RAINER (CH); LEWIS IAN (CH); NOV) 7 February 2002 (2002-02-07)
D2: HUANG ZIWEI ET AL: "Main chain and side chain chiral methylated somatostatin analogs: syntheses and conformational analyses" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US, Vol. 114, 1992, pages 9390-9401, XP002189302
ISSN: 0002-7863

5. Novelty of inventions 1-3 (Art. 33(2) PCT):

The subject-matter of present inventions 1-3 is novel, since D1 uses a different starting compound.

D2 discloses a process for the preparation of different compounds to those of present inventions 1-3.

6. Inventive step of inventions 1-3 (Art. 33(3) PCT):

D1 is considered the closest prior art. It discloses processes for the preparation of compound of present formula I.

The difference between the present process and the process of D1 is the use of different starting compounds. No other difference could be seen.

The present solution provides as starting compound the compound of formula II-IV. This solution solves the problem however not in an inventive manner. The present compounds II-IV are so close to that of D1 (see p. 4, l. 15 and examples 1-3) that an inventive merit could only be acknowledged in the presence of an improvement or surprising effect. Such a improvement or surprising effect is not apparent from the present disclosure.

On the other hand, D1 discloses on p. 3, l. 18-27 that the present compounds of formula I could be obtained by cyclising of linear peptides in such a way that the compound I (A in D1) is obtained. Taking into account that the compounds of formula I have a well-defined sequence, the skilled person would be able to provide different peptides that after circularisation give the compound of formula I. The present solutions are nothing else than different linear peptides that after circularisation give the compound of formula I. As not surprising or unexpected effect has been shown, an inventive step cannot be acknowledged.

Thus, claims 1-2 are not inventive.

It follows that the compounds II-IV are evident for the skilled person from the disclosure of D1. The compounds II-IV are evident for the skilled person from D1 due to their structural similarities with the compound A or the compound at p. 4, l. 15 of D1. Furthermore, the compounds II-IV do not seem to contribute in an inventive manner to the present process (no evidences provided). Thus, claims 3-5 are also not inventive.

The process for the preparation of a non-inventive compound cannot be considered inventive in the absence of further technical features. The skilled person is well aware of the peptide chemistry. For instance, ordinary peptide synthesis of peptides include the step

**WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING
AUTHORITY (SEPARATE SHEET)**

International application No.

PCT/EP2004/008850

of adding amino acids by formation of amide bonds. Thus, claim 6 is also not inventive.

7. Industrial applicability (Art. 33 (4) PCT).

The present subject-matter is industrially applicable.

18. Feb. 2005

From the INTERNATIONAL BUREAU

FDH

F/F ~~NU~~ F/L PS Copy

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
TRANSMITTAL OF COPY OF INTERNATIONAL
APPLICATION AS PUBLISHED OR REPUBLISHED

To:

GRUBB, Philip
Novartis AG
Corporate Intellectual Property
CH-4002 Basel
SUISSEDate of mailing (day/month/year)
17 February 2005 (17.02.2005)Applicant's or agent's file reference
ON/4-33308A

IMPORTANT NOTICE

International application No.
PCT/EP2004/008850International filing date (day/month/year)
06 August 2004 (06.08.2004)Priority date (day/month/year)
08 August 2003 (08.08.2003)

Applicant

NOVARTIS AG et al

The International Bureau transmits herewith the following documents:

- ☒ copy of the international application as published by the International Bureau on 17 February 2005 (17.02.2005) under No. WO 2005/014624
- ☐ copy of international application as republished by the International Bureau on under No. WO
- For an explanation as to the reason for this republication of the international application, reference is made to INID codes (15), (48) or (88) (as the case may be) on the front page of the attached document.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Agnes Wittmann-Regis

Facsimile No.+41 22 740 14 35

Facsimile No.+41 22 338 89 70

13.09.2005
ON/4 -33308A
Alan Graff

Compactus

FFACT
PCT
EP2004/008850

Corporate Intellectual Property

18. Juli 2005

F/F M/D F/L PS Copy

PCT

6

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

NOVARTIS AG
Corporate Intellectual Property
Attn. Grubb, Philip
4002 Basel
SWITZERLAND

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT AND
THE WRITTEN OPINION OF THE INTERNATIONAL
SEARCHING AUTHORITY, OR THE DECLARATION

REGISTERED MAIL

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing (day/month/year)	13/07/2005
Applicant's or agent's file reference ON/4 -33308A	FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below
International application No. PCT/EP2004/008850	International filing date (day/month/year) 06/08/2004
Applicant NOVARTIS AG	

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report and the written opinion of the International Searching Authority have been established and are transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 18:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the International Application (see Rule 48):

When? The time limit for filing such amendments is normally 2 months from the date of transmittal of the International Search Report; however, for more details, see the notes on the accompanying sheet.

Where? Directly to the International Bureau of WIPO, 34 chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland, Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

For more detailed instructions, see the notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect and the written opinion of the International Searching Authority are transmitted herewith.

3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:

- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
☐ no decision has been made yet on the protest; the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Reminders

Shortly after the expiration of 18 months from the priority date, the International application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the International application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

The applicant may submit comments on an informal basis on the written opinion of the International Searching Authority to the International Bureau. The International Bureau will send a copy of such comments to all designated Offices unless an international preliminary examination report has been or is to be established. These comments would also be made available to the public but not before the expiration of 30 months from the priority date.

Within 19 months from the priority date, but only in respect of some designated Offices, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later); otherwise, the applicant must, within 20 months from the priority date, perform the prescribed acts for entry into the national phase before those designated Offices.

In respect of other designated Offices, the time limit of 30 months (or later) will apply even if no demand is filed within 19 months.

See the Annex to Form PCT/IB/301 and, for details about the applicable time limits, Office by Office, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters and the WIPO Internet site.

Name and mailing address of the International Searching Authority  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3018	Authorized officer Anu Evers
--	-------------------------------------

NOTES TO FORM PCT/ISA/220

These Notes are intended to give the basic instructions concerning the filing of amendments under article 19. The Notes are based on the requirements of the Patent Cooperation Treaty, the Regulations and the Administrative Instructions under that Treaty. In case of discrepancy between these Notes and those requirements, the latter are applicable. For more detailed information, see also the *PCT Applicant's Guide*, a publication of WIPO.

In these Notes, "Article", "Rule", and "Section" refer to the provisions of the PCT, the PCT Regulations and the PCT Administrative Instructions, respectively.

INSTRUCTIONS CONCERNING AMENDMENTS UNDER ARTICLE 19

The applicant has, after having received the International search report and the written opinion of the International Searching Authority, one opportunity to amend the claims of the International application. It should however be emphasized that, since all parts of the International application (claims, description and drawings) may be amended during the international preliminary examination procedure, there is usually no need to file amendments of the claims under Article 19 except where, e.g. the applicant wants the latter to be published for the purposes of provisional protection or has another reason for amending the claims before international publication. Furthermore, it should be emphasized that provisional protection is available in some States only (see *PCT Applicant's Guide*, Annexes B1 and B2).

The attention of the applicant is drawn to the fact that amendments to the claims under Article 19 are not allowed where the International Searching Authority has declared, under Article 17(2), that no international search report would be established (see *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, paragraph 296).

What parts of the International application may be amended?

Under Article 19, only the claims may be amended.

During the international phase, the claims may also be amended (or further amended) under Article 34 before the International Preliminary Examining Authority. The description and drawings may only be amended under Article 34 before the International Examining Authority.

Upon entry into the national phase, all parts of the International application may be amended under Article 28 or, where applicable, Article 41.

When?

Within 2 months from the date of transmittal of the International search report or 18 months from the priority date, whichever time limit expires later. It should be noted, however, that the amendments will be considered as having been received on time if they are received by the International Bureau after the expiration of the applicable time limit but before the completion of the technical preparations for international publication (Rule 46.1).

Where not to file the amendments?

The amendments may only be filed with the International Bureau and not with the receiving Office or the International Searching Authority (Rule 46.2).

Where a demand for international preliminary examination has been/is filed, see below.

How?

Either by cancelling one or more entire claims, by adding one or more new claims or by amending the text of one or more of the claims as filed.

A replacement sheet must be submitted for each sheet of the claims which, on account of an amendment or amendments, differs from the sheet originally filed.

All the claims appearing on a replacement sheet must be numbered in Arabic numerals. Where a claim is cancelled, no renumbering of the other claims is required. In all cases where claims are renumbered, they must be renumbered consecutively (Administrative Instructions, Section 205(b)).

The amendments must be made in the language in which the International application is to be published.

What documents must/may accompany the amendments?

Letter (Section 205(b)):

The amendments must be submitted with a letter.

The letter will not be published with the International application and the amended claims. It should not be confused with the "Statement under Article 19(1)" (see below, under "Statement under Article 19(1)").

The letter must be in English or French, at the choice of the applicant. However, if the language of the International application is English, the letter must be in English; if the language of the International application is French, the letter must be in French.



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

67 3
SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación: 00000017 00000000 Folios: 66
Fecha (ORD): 2006-03-02 14:32:59
Trámite: 011 PCI-PATENT 374 FINE NOLI 411 MARCENAL
Dependencia: 0000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Delegatura de Propiedad Industrial División de Nuevas Creaciones

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACIÓN Y AGILIZACIÓN DEL TRAMITE

PATENTE DE INVENCION ()	MODELO DE UTILIDAD ()	USUARIO ()	RADICADOR ()
-Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()	()
-Descripción de la invención.	()	()	()
-Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()	()

DISEÑO INDUSTRIAL ()			
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()	()
-Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()	()

ESQUEMA DE TRAZADO ()			
-Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial.	()	()	()
-Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()	()
-Representación gráfica del Esquema Trazado.	()	()	()
-Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()	()

Firma Responsable:

Fecha:

INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 06 – 020917

Fecha: 02 de Marzo de 2.006

Se certifica que:

Desde fecha 16 de abril de 1997,
del folio 90.643 al folio 90.650 del libro de
Protocolo N° 311 , obra el poder N° 17.398
conferido por NOVARTIS AG (NOVARTISSA)
(NOVARTIS INC.) domiciliado(a) en Basilea - Suiza al
doctor JIMENA ESCOBAR URIBE y/o IGNACIO
ESCOBAR URIBE.

Representante en Santafé de Bogotá D.C. Los mismos.

Facultad para desistír y sustituir SI.

Revisado ramosjuano.

65

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Folio 69

2020
Bogotá D.C.,

Doctor(a)
ESCOBAR URIBE JIMENA
Apoderado(a) y/o Representante de
NOVARTIS AG

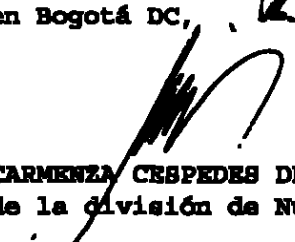
REFERENCIA	Radicación No.	06 20917
	Solicitud internacional	EP2004/008850
	Fecha inicio fase nacional	08/03/2006
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	416
	Oficio No.	396
	Folios	1

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, el Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), el Reglamento y la Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial.

Cúmplase

Dado en Bogotá DC,

21 ABR. 2006


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

jramos