

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No.

06-49388

54. TITULO

USO DE PEPTIDOS CICLICOS TIPO ANABAENOPEPTINA PARA EL TRATAMIENTO
DE UNA ENFERMEDAD EN DONDE ES BENEFICA LA INHIBICION DE CARBOXY-
PEPTIDASA U. DERIVADOS NOVEDOSOS DE ANABAENOPEPTINA Y SUS INTER-
MEDIOS

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K38/12, C07K7/50, A61P7/00,
A61P7/02, 9/10

71. SOLICITANTE

ASTRAZENTICA AB

DOMICILIO

SODERTALJE, SUECIA

74. APODERADO

JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

22. SANTAFE DE BOGOTA, D.C.

Creación

F.N. 24-06-2006

Completado 16 folios
29-07-2006

(FORMA P 10)

Oficina de Comunicaciones

PETITORIO

AS: 101.085



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-049388- -00000-0000
Fec: 2006-05-23 16:40:30 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTE VII
Evo: 378 FASE NACIONAL I
Act 411 PRESENTACION Folios: 117

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE

PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

29-05-06

1

SOLICITUD DE:



Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.



Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: **ASTRAZENECA AB**

Dirección: S-1-51 85 Södertälje, Suecia
Nacionalidad o Domicilio: Suecia
Lugar de Constitución: Suecia

Teléfono: Fax:
E-mail:

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____
Número _____

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **JUAN PABLO CADENA SARMIENTO**

Dirección: Cra. 7 No. 16-56 Piso 9

Teléfono: 380-2200 Fax: 380-2700
E-mail:

IDENTIFICACION

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____
Número 80.410.337 TP 57492

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: Petter Björquist, Malcolm Buchanan, Marc Campitelli, Anthony Carroll, Edward Hyde, Juliette Neve, Magnus Polla, Ron Quinn

Dirección: Cellartis AB, Arvid Wallgrens Backe 20, S-413 46 Göteborg, SE; Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111, AU; Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111, AU; Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111, AU; Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111, AU; ; Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111, AU; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83 Mölndal, SE; Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111, AU (Respectivamente)

Nacionalidad o Domicilio: Suecia y Australia (Respectivamente)

5 PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/SE2004/001568

Fecha 28-10-2004

Publicación Internacional No. WO 2005/039617 A1

Fecha 06-05-2005

6 Título (54): USO DE PÉPTIDOS CÍCLICOS TIPO ANABAENOPEPTINA PARA EL TRATAMIENTO DE UNA ENFERMEDAD EN DONDE ES BENÉFICA LA INHIBICIÓN DE CARBOXIPEPTIDASA U. DERIVADOS NOVEDOSOS DE ANABAENOPEPTINA Y SUS INTERMEDIOS

7 Clasificación Internacional (51) A61K38/12, C07K7/50, A61P7/00, 7/02, 9/10,

8 Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

SE

(32) Fecha

29-10-2003

(31) Número de Solicitud

0302853-7

9 Comprobante de pago No. 06-24,282

Fecha 23-05-2006

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10

ANEXOS

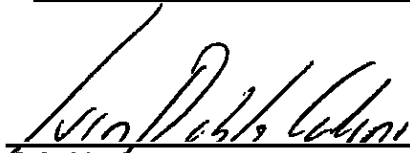
- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. \$463.000
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso. **Fotocopia Autenticada**
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su 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 efectuado por la IPEA.
- ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del 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 12x12.
- ☐ 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.
- ☒ Otros: Tarjeta de Propietarios

11 FIGURA CARACTERÍSTICA:

12 Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JUAN PABLO CADENA SARMIENTO

FIRMA:


C.C. 80.410.337 de Usaquén T.P. 57492 del C.S.J.

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-049388- -00000-0000
Fec: 2006-06-20 10:40:30 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTERII
Eve: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION Folios: 117

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 06 - 24,282
FECHA : MARZO 28 DE 2006

***** C O N S I G N A C I O N *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
BRIGARD & CASTRO LTDA	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	44793612	27/03/2006	21,060,000.00

***** C O N C E P T O *****

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

SON: CUATROCIENTOS SESENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Foto 4 tanga
proprietatis



(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
6 May 2005 (06.05.2005).

PCT

(10) International Publication Number
WO 2005/039617 A1

(51) International Patent Classification⁷: A61K 38/12,
C07K 7/50, A61P 7/00, 7/02, 9/10 // 35/00

Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research
Park, Brisbane, QLD 4111 (AU).

(21) International Application Number:
PCT/SE2004/001568

(74) Agent: ASTRAZENECA; Global Intellectual Property,
S-151 85 Södertälje (SE).

(22) International Filing Date: 28 October 2004 (28.10.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
0302853-7 29 October 2003 (29.10.2003) SE

(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.

(71) Applicant (for all designated States except US): AS-
TRAZENECA AB [SE/SE]; S-151 85 Södertälje (SE).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): BJÖRQUIST,
Petter [SE/SE]; Cellartis AB, Arvid Wallgrens Backe
20, S-413 46 Göteborg (SE). BUCHANAN, Malcolm
[GB/AU]; Natural Product Discovery, Don Young Rd,
Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111 (AU).
CAMPITELLI, Marc [AU/AU]; Natural Product Discov-
ery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane,
QLD 4111 (AU). CARROLL, Anthony [AU/AU];
Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Re-
search Park, Brisbane, QLD 4111 (AU). HYDE, Edward
[US/AU]; Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt
Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111 (AU). NEVE,
Juliette [AU/AU]; Natural Product Discovery, Don Young
Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD 4111 (AU).
POLLÄ, Magnus [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal,
S-431 83 Mölndal (SE). QUINN, Ron [AU/AU]; Natural

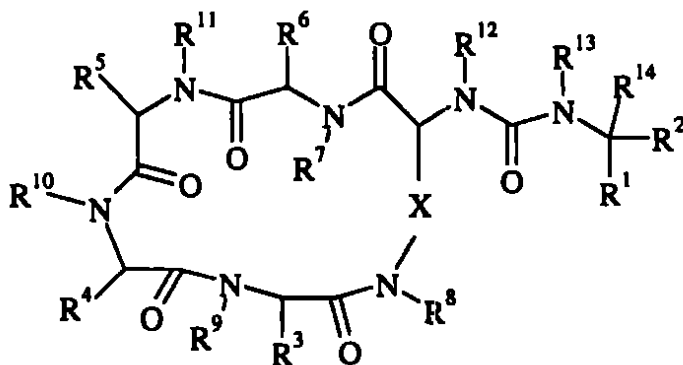
(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM,
ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI,
FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, 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:

- with international search report
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: USE OF CYCLIC ANABAENOPEPTIN-TYPE PEPTIDES FOR THE TREATMENT OF A CONDITION WHEREIN
INHIBITION OF CARBOXYPEPTIDASE U IS BENEFICIAL, NOVEL ANABAENOPEPTIN DERIVATIVES AND INTERME-
DIATES THEREOF



(I)

(57) Abstract: The use of a com-
pound of formula (I): in a method
of manufacturing a medicament
for the treatment or prophylaxis of
a condition wherein inhibition of
carboxypeptidase U is beneficial;
specified compounds of formula
(I) and compositions comprising
a compound of formula (I) and
a pharmaceutically acceptable
adjuvant, diluent or carrier.

WO 2005/039617 A1

Use of cyclic anabaenopeptin-type peptides for the treatment of a condition wherein inhibition of carboxypeptidase U is beneficial, novel anabaenopeptin derivatives and intermediates thereof.

The present invention relates to novel compounds, and pharmaceutically acceptable salts thereof, which inhibit basic carboxypeptidases, more specifically carboxypeptidase U, and thus can be used in the prevention and treatment of diseases wherein inhibition of
5 carboxypeptidase U is beneficial, such as thrombosis and hypercoagulability in blood and tissue, atherosclerosis, adhesions, dermal scarring, cancer, fibrotic conditions, inflammatory diseases and those conditions which benefit from maintaining or enhancing bradykinin levels in the body. In further aspects, the invention relates to compounds of the invention for use in therapy; to processes for preparation of such new compounds; to pharmaceutical compositions
10 containing at least one compound of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, as active ingredient; and to the use of the active compounds in the manufacture of medicaments for the medical use indicated above.

Fibrinolysis is the result of a series of enzymatic reactions resulting in the degradation of fibrin by plasmin. The activation of plasminogen is the central process in fibrinolysis. The
15 cleavage of plasminogen to produce plasmin is accomplished by the plasminogen activators, tissue-type plasminogen activator (t-PA) or urokinase-type plasminogen activator (u-PA). Initial plasmin degradation of fibrin generates carboxy-terminal lysine residues that serve as high affinity binding sites for plasminogen. Since plasminogen bound to fibrin is much more readily activated to plasmin than free plasminogen this mechanism provides a positive
20 feedback regulation of fibrinolysis.

One of the endogenous inhibitors to fibrinolysis is carboxypeptidase U (CPU). CPU is also known as plasma carboxypeptidase B, active thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFIa), carboxypeptidase R and inducible carboxypeptidase activity. CPU is formed during coagulation and fibrinolysis from its precursor proCPU by the action of proteolytic enzymes,
25 such as thrombin, thrombin-thrombomodulin complex or plasmin. CPU cleaves basic amino acids at the carboxy-terminal of fibrin fragments. The loss of carboxy-terminal lysines and thereby of lysine binding sites for plasminogen then serves to inhibit fibrinolysis. By inhibiting the loss of lysine binding sites for plasminogen and thus increase the rate of plasmin formation, effective inhibitors of carboxypeptidase U are expected to facilitate
30 fibrinolysis.

2-Mercaptomethyl-3-guanidinoethylthiopropionic acid is reported as a carboxypeptidase N inhibitor. More recently, this compound has been shown to inhibit CPU, Hendriks, D. *et al.*, Biochimica et Biophysica Acta, 1034 (1990) 86-92.

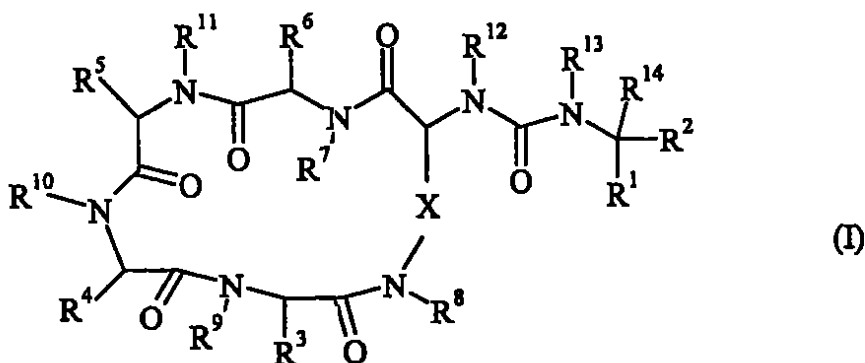
Guanidinoethylmercaptosuccinic acid is reported as a carboxypeptidase N inhibitor.

5 More recently, this compound has been shown to inhibit CPU, Eaton, D. L., *et al.*, The Journal of Biological Chemistry, 266 (1991) 21833-21838.

CPU inhibitors are disclosed in WO 00/66550, WO 00/66557, WO 03/013526 and WO 03/027128 and a pharmaceutical formulation containing a CPU inhibitor and a thrombin inhibitor is disclosed in WO 00/66152. Inhibitors of plasma carboxypeptidase B are disclosed
10 in WO 01/19836 and WO 03/080631. Inhibitors of TAFIa are disclosed in WO 02/14285, WO 03/061652 and WO 03/061653.

Cyclic Anabaenopeptin-type peptides are disclosed in: Tetrahedron Letters, Vol. 36, No. 9, pp. 1511-1514 (1995); J. Org. Chem. (1997) 62 6199-6203; Tetrahedron Letters, Vol. 36, No. 33, pp. 5933-5936, (1995); J. Nat. Prod. (1996) 59 570-575; Tetrahedron Letters, Vol.
15 38, No. 31, pp. 5525-5528, (1997); J. Nat. Prod. (1997) 60 139-141; Tetrahedron 54 (1998) 6719-6724; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 9 (1999) 1243-1246; Tetrahedron 56 (2000) 725-733; J. Nat. Prod. (2000) 63 1280-1282; J. Nat. Prod. (2001) 64 No. 8 1053; Tetrahedron 58 (2002) 6863-6871; and, J. Nat. Prod. (2002) 65 1187-1189.

The synthesis of cyclic Anabaenopeptin-type peptides are disclosed in: Journal of
20 Organic Chemistry, Vol.62, pp.6199-6203 (1997); and Angewandte Chemie International Edition, Vol.35, No.12, pp. 1336-1338 (1996). It has now been found that compounds of formula (I):



or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt, are
25 particularly effective as inhibitors of carboxypeptidase U and are therefore useful as medicaments for the treatment or prophylaxis of conditions wherein inhibition of

carboxypeptidase U is beneficial, for example in the treatment or prophylaxis of: thrombosis and/or hypercoagulability in blood and/or tissues; atherosclerosis; adhesions; dermal scarring; cancer; fibrotic conditions; inflammatory diseases; conditions which benefit from maintaining or enhancing bradykinin levels in the body of a mammal (such as man); protein C resistance;

5 inherited or aquired deficiencies in antithrombin III, protein C, protein S or heparin cofactor II; circulatory or septic shock; circulating antiphospholipid antibodies; hyperhomocysteinemia; heparin induced thrombocytopenia; defects in fibrinolysis; venous thrombosis; pulmonary embolism; arterial thrombosis (for example in myocardial infarction, unstable angina, thrombosis-based stroke or peripheral arterial thrombosis); systemic embolism usually from

10 the atrium during atrial fibrillation or from the left ventricle after transmural myocardial infarction; the prophylaxis of re-occlusion and restenosis (that is, thrombosis) after thrombolysis; percutaneous trans-luminal intervention (PTI) and coronary bypass operations; the prevention of re-thrombosis after microsurgery and vascular surgery in general; disseminated intravascular coagulation caused by bacteria, multiple trauma, intoxication or

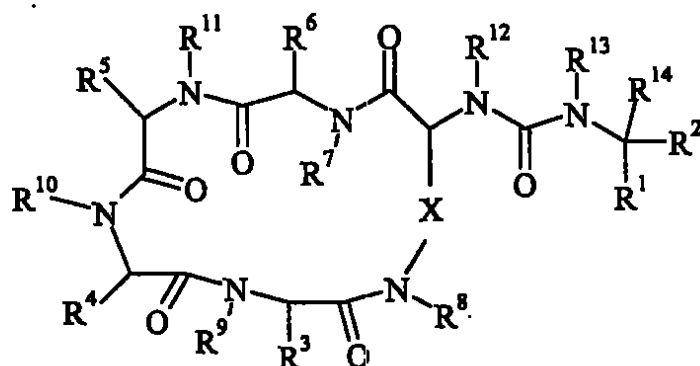
15 any other mechanism; fibrinolytic treatment when blood is in contact with foreign surfaces in the body, such as vascular grafts, vascular stents, vascular catheters, mechanical and biological prosthetic valves or any other medical device; fibrinolytic treatment when blood is in contact with medical devices outside the body, such as during cardiovascular surgery using a heart-lung machine or in haemodialysis; prophylaxis of atherosclerotic progression and/or

20 transplant rejection in patients subject to organ transplantation, for example renal transplantation; inhibiting tumor maturation and progression; any condition in which fibrosis is a contributing factor (for example cystic fibrosis, pulmonary fibrotic disease eg chronic obstructive pulmonary disease (COPD), adult respiratory distress syndrome (ARDS), fibromuscular dysplasia, fibrotic lung disease or fibrin deposits in the eye during ophthalmic

25 surgery); inflammation (such as asthma, arthritis, endometriosis, inflammatory bowel diseases, psoriasis or atopic dermatitis); neurodegenerative diseases such as Alzheimers and Parkinsons; or conditions known to benefit from maintaining or enhancing bradykinin levels (such as hypertension, angina, heart failure, pulmonary hypertension, renal failure or organ failure).

30 Thus, the present invention provides the use of a compound of formula (I):

4



(I)

wherein:

X is $(CH_2)_m Y (CH_2)_n$;

m and n are, independently, 1, 2, 3, 4, 5 or 6; provided that m + n is not more than 6;

5 Y is a bond, O, $S(O)_p$, or S-S;

R^1 is CO_2R^{15} or a carboxylic acid isostere such as $S(O)_2OH$, $S(O)_2NHR^{15}$, $PO(OR^{15})OH$, $PO(OR^{15})NH_2$, $B(OR^{15})_2$, $PO(R^{15})OH$, $PO(R^{15})NH_2$ or tetrazole;

R^2 , R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are, independently, hydrogen, C_{1-6} alkyl (optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, SH, $S(O)_3H$, $S(O)_q(C_{1-6}$ alkyl), $OC(O)(C_{1-4}$ alkyl), CF_3 , C_{1-4} alkoxy,

10 OCF_3 , $COOH$, $CONH_2$, $CONH(C_{1-6}$ alkyl), NH_2 , $CNH(NH_2)$, or $NHCNH(NH_2)$), C_{3-6} cycloalkyl(C_{1-4})alkyl (wherein the cycloalkyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$), heterocyclyl(C_{1-4})alkyl (wherein the heterocyclyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$),

15 phenyl(C_{1-4})alkyl (wherein the phenyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$) or heteroaryl(C_{1-4})alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$);

p and q are, independently, 0, 1 or 2;

20 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} and R^{13} are, independently, H or C_{1-4} alkyl;

R^{14} is H or C_{1-4} alkyl; and,

R^{15} is H or C_{1-4} alkyl;

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt; in a method of manufacturing a medicament for the treatment or prophylaxis of a condition

25 wherein inhibition of carboxypeptidase U is beneficial, for example in the treatment or prophylaxis of: thrombosis and/or hypercoagulability in blood and/or tissues; atherosclerosis;

adhesions; dermal scarring; cancer; fibrotic conditions; inflammatory diseases; conditions which benefit from maintaining or enhancing bradykinin levels in the body of a mammal (such as man); protein C resistance; inherited or acquired deficiencies in antithrombin III, protein C, protein S or heparin cofactor II; circulatory or septic shock; circulating

5 antiphospholipid antibodies; hyperhomocysteinemia; heparin induced thrombocytopenia; defects in fibrinolysis; venous thrombosis; pulmonary embolism; arterial thrombosis (for example in myocardial infarction, unstable angina, thrombosis-based stroke or peripheral arterial thrombosis); systemic embolism usually from the atrium during atrial fibrillation or from the left ventricle after transmural myocardial infarction; the prophylaxis of re-occlusion

10 and restenosis (that is, thrombosis) after thrombolysis; percutaneous trans-luminal intervention (PTI) and coronary bypass operations; the prevention of re-thrombosis after microsurgery and vascular surgery in general; disseminated intravascular coagulation caused by bacteria, multiple trauma, intoxication or any other mechanism; fibrinolytic treatment when blood is in contact with foreign surfaces in the body, such as vascular grafts, vascular

15 stents, vascular catheters, mechanical and biological prosthetic valves or any other medical device; fibrinolytic treatment when blood is in contact with medical devices outside the body, such as during cardiovascular surgery using a heart-lung machine or in haemodialysis; prophylaxis of atherosclerotic progression and/or transplant rejection in patients subject to organ transplantation, for example renal transplantation; inhibiting tumor maturation and

20 progression; any condition in which fibrosis is a contributing factor (for example cystic fibrosis, pulmonary fibrotic disease eg chronic obstructive pulmonary disease (COPD), adult respiratory distress syndrome (ARDS), fibromuscular dysplasia, fibrotic lung disease or fibrin deposits in the eye during ophthalmic surgery); inflammation (such as asthma, arthritis, endometriosis, inflammatory bowel diseases, psoriasis or atopic dermatitis);

25 neurodegenerative diseases such as Alzheimers and Parkinsons; or conditions known to benefit from maintaining or enhancing bradykinin levels (such as hypertension, angina, heart failure, pulmonary hypertension, renal failure or organ failure).

In the context of the present invention, the term "therapy" includes "prophylaxis" unless there are specific indications to the contrary. The terms "therapeutic" and

30 "therapeutically" should be understood accordingly.

In one particular aspect the present invention provides the use of a compound of formula (I), as herein described, in a method of manufacturing a medicament for the treatment

or prophylaxis of thrombosis and/or hypercoagulability in blood and/or tissues; atherosclerosis; fibrotic conditions; inflammatory diseases; or a condition which benefits from maintaining or enhancing bradykinin levels in the body of a mammal (such as man).

In another aspect the present invention provides the use of a compound of formula (I),
5 as herein described, in a method of manufacturing a medicament for the treatment or prophylaxis of thrombosis and/or hypercoagulability in blood and/or tissues; atherosclerosis; fibrotic conditions; or a condition which benefits from maintaining or enhancing bradykinin levels in the body of a mammal (such as man); for example a medicament for the treatment or prophylaxis of thrombosis and/or hypercoagulability in blood and/or tissues.

10 The compounds of formula (I) exist in isomeric forms and the present invention covers all such forms and mixtures thereof in all proportions. Both pure enantiomers, racemic mixtures and equal and unequal mixtures of two enantiomers are within the scope of the present invention. It should also be understood that all possible diastereomeric forms possible are within the scope of the invention.

15 Compounds of formula (I) can be in the form of a salt. Suitable salts include acid addition salts such as a hydrochloride, dihydrochloride, hydrobromide, phosphate, sulfate, acetate, diacetate, fumarate, maleate, tartrate, citrate, oxalate, methanesulfonate or *p*-toluenesulfonate. Salts also include metal salts, such as an alkali metal salt (for example a sodium or potassium salt) or an alkaline earth metal salt (for example magnesium or calcium).

20 The term C₁₋₄ alkyl denotes a straight or branched alkyl group having 1 to 4 carbon atoms in the chain. Examples of alkyl include methyl, ethyl, n-propyl, iso-propyl, n-butyl, iso-butyl, sec-butyl and tert-butyl.

The term C₁₋₄ alkoxy denotes an alkyl-O group, where alkyl is straight or branched chain and examples include methoxy and ethoxy.

25 Halogen includes fluoro, chloro, bromo and iodo (but is, for example, fluoro, chloro or bromo).

Cycloalkyl is, for example, cyclopropyl, cyclopentyl or cyclohexyl.

The term heterocyclyl denotes a non-aromatic ring containing carbon and at least one (such as one or two) atoms selected from nitrogen, oxygen or sulphur. Heterocyclyl is, for
30 example, pyrrolidinyl, piperidinyl, piperazinyl or morpholinyl.

The term heteroaryl denotes an aromatic ring system (for example a mono-cycle or a bicycle) containing carbon and at least one (such as one or two) atoms selected from nitrogen,

oxygen or sulphur. Heteroaryl, is for example, furan, thiophene, pyrrole, oxazole, isoxazole, thiazole, imidazole, pyrazole, isothiazole, oxadiazole, furazan, [1,2,3]-triazole, [1,2,4]-triazole, thiadiazole, pyridine, pyridazine, pyrimidine, pyrazine, indole or naphthyridine.

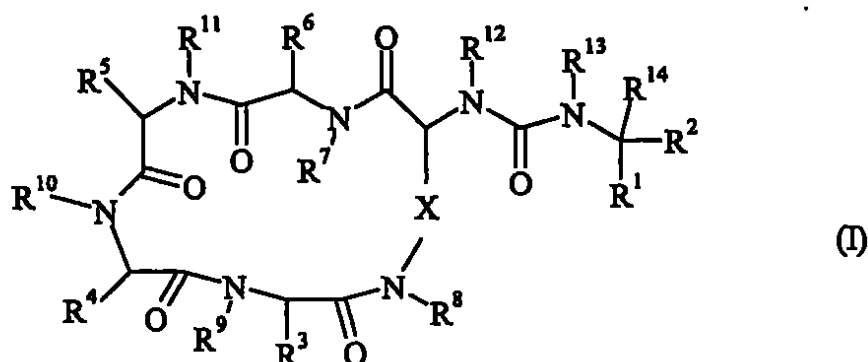
Phenylalkyl is for example benzyl or 1-phenyleth-2-yl.

5 Cycloalkylalkyl is, for example, cyclohexylmethyl.

Heteroalkylalkyl is, for example, indol-3-ylmethyl.

Heterocyclalkyl is, for example, piperidin-1-ylmethyl.

In another aspect the present invention provides a compound of formula (I):



10 wherein:

X is (CH₂)₄;

R¹ is CO₂R¹⁵;

R² is straight-chain C₁₋₆ alkyl substituted at its terminus by NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); C₃₋₆ cycloalkyl substituted by NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂);

- 15 heterocycl containing at least one nitrogen atom; non-nitrogen containing heterocycl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); heteroaryl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); phenyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); heteroaryl(C₁₋₄)alkyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); phenyl(C₁₋₄)alkyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); or C₃₋₆ cycloalkyl(C₁₋₄)alkyl substituted
- 20 with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); all of the above rings being optionally further substituted by one or more of: halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy or OCF₃; one of R³, R⁴, R⁵ and R⁶ is independently, hydrogen, heteroaryl(C₁₋₄)alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)); and the others are, independently,
- 25 hydrogen, C₁₋₆ alkyl (optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, SH, S(O)₃H, S(O)_q(C₁₋₆ alkyl), OC(O)(C₁₋₄ alkyl), CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, COOH, CONH₂, CONH(C₁₋₆

alkyl), NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$, or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), C_{3-6} cycloalkyl(C_{1-4})alkyl (wherein the cycloalkyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), heterocyclyl(C_{1-4})alkyl (wherein the heterocyclyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), phenyl(C_{1-4})alkyl (wherein the phenyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$) or heteroaryl(C_{1-4})alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$);

10 p and q are, independently, 0, 1 or 2;

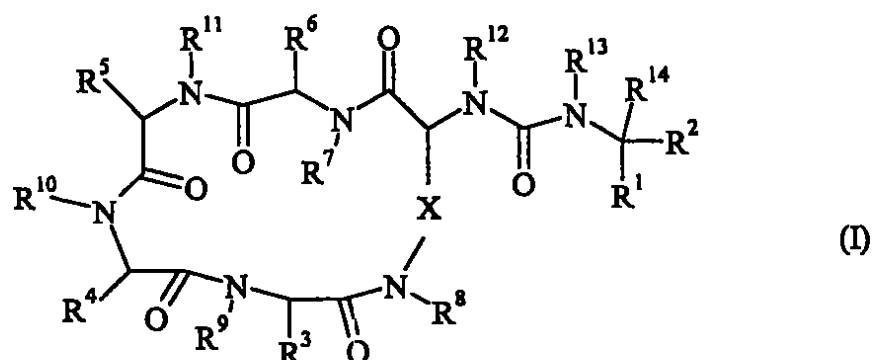
R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} and R^{13} are, independently, H or C_{1-4} alkyl;

R^{14} is H or C_{1-4} alkyl; and,

R^{15} is H or C_{1-4} alkyl;

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt.

15 In a further aspect the present invention provides a compound of formula (I):



wherein:

R^1 is CO_2R^{15} ;

R^2 is straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or

20 $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$; C_4 alkyl (such as $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ or $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); or

(aminopyridinyl)methyl (for example (6-aminopyridin-3-yl)methyl);

one of R^3 and R^4 is (indol-3-yl) CH_2 optionally substituted by halo or hydroxy; and the other is benzyl (optionally substituted by halo or hydroxy) or C_4 alkyl (such as $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ or $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$);

25 or R^3 and R^4 are both methyl;

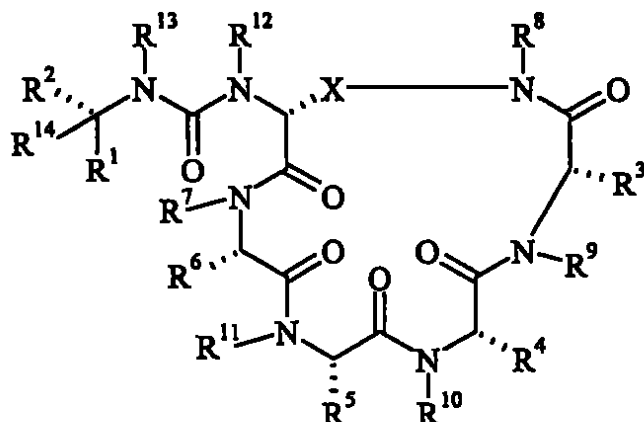
R^5 and R^6 are, independently, C_{1-6} alkyl (for example CH_3 , $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2CH_3$ or $CH_2CH(CH_3)_2$);

R^7 , R^8 , R^9 , R^{11} , R^{12} , R^{13} and R^{14} are H;

R^{10} is C_{1-4} alkyl; and,

5 R^{15} is H or C_{1-4} alkyl.

In another aspect the present invention provides a compound of formula (I) having the chirality shown below:



In an aspect of the invention X is $(CH_2)_4$.

10 In a further aspect of the invention R^1 is CO_2R^{15} wherein R^{15} is H or C_{1-4} alkyl (for example methyl).

In another aspect R^2 is straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$; C_4 alkyl (such as $CH(CH_3)CH_2CH_3$ or $CH_2CH(CH_3)_2$); or (aminopyridinyl)methyl (for example (6-aminopyridin-3-yl)methyl).

15 In a still further aspect of the invention R^2 is C_{1-6} alkyl (such as iso-propyl, $CH(CH_3)CH_2CH_3$ or $CH_2CH(CH_3)_2$), benzyl, or straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $CNH(NH_2)$, $NHCNH(NH_2)$ or (6-aminopyridin-3-yl)methyl. In another aspect R^2 is straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $CNH(NH_2)$, $NHCNH(NH_2)$ or (6-aminopyridin-3-yl)methyl.

20 In yet another aspect of the invention R^3 is CH_2 indolyl (wherein the indolyl is optionally substituted by one or more of: halogen (for example chloro or bromo) or hydroxy), C_{1-4} alkyl or benzyl (optionally substituted by halogen (for example bromo) or hydroxy).

In another aspect of the invention R^4 is CH_2 indolyl (wherein the indolyl is optionally substituted by one or more of: halogen (for example chloro or bromo) or hydroxy), C_{1-6} alkyl

(such as methyl, iso-propyl, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ or $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) or benzyl (optionally substituted by halogen (for example bromo) or hydroxy).

In a further aspect of the invention R^5 and R^6 are, independently, C_{1-6} alkyl (such as methyl, iso-propyl, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ or $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

5 In another aspect of the invention R^7 , R^8 , R^9 , R^{11} , R^{12} , R^{13} and R^{14} are all H.

In yet another aspect of the invention R^{10} is C_{1-4} alkyl (for example methyl).

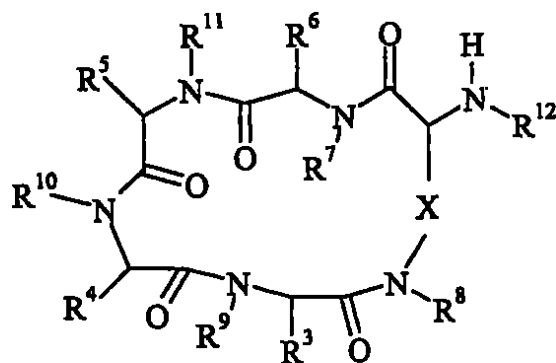
In a still further aspect the invention provides a compound of formula (I) which is Compound 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 or 16, of a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of a pharmaceutically acceptable salt thereof.

10 The compounds of the present invention can be prepared by methods known in the art or analogous to the methods of Examples 3 and 4. It will be appreciated that when adapting methods of the literature or of Examples 3 and 4 that functional groups of intermediate compounds may need to be protected by protecting groups. Functional groups which it is desirable to protect include hydroxy, carboxylate and amino groups. Suitable protecting

15 groups for hydroxy include trialkylsilyl or diarylalkyl-silyl (for example tert-butyldimethylsilyl, tert-butyldiphenylsilyl or trimethylsilyl), tetrahydropyranyl, tert-butyl, methoxymethyl, benzyloxymethyl and 4-methoxybenzyl. Suitable protecting groups for carboxylate include allyl, ethyl, tert-butyl and benzyl esters. Suitable protecting groups for amino include tert-butyloxycarbonyl, 2,4,6-trimethoxybenzyl and benzyloxycarbonyl. The use

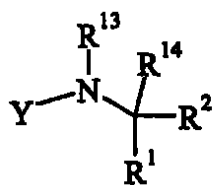
20 of protecting groups is described in 'Protective Groups in Organic Synthesis', third edition, T.W. Greene & P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1999). The protective group may also be a polymer resin such as 4-hydroxymethyl-3-methoxyphenoxybutyric acid resin or a 2-chlorotriethyl chloride resin.

Thus, compounds of formula I may be prepared by reacting a compound of formula VII



(VII)

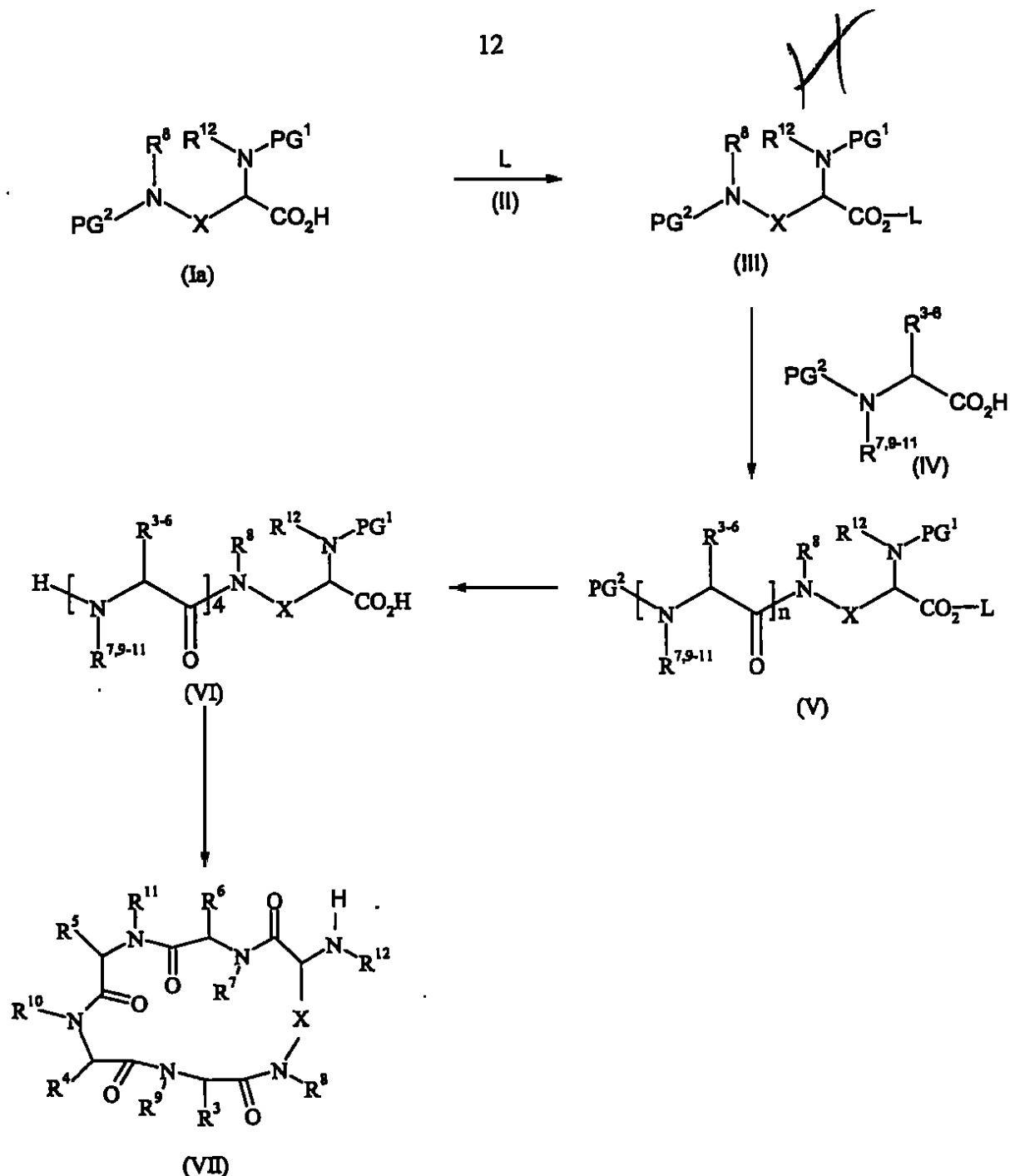
wherein R^3 to R^{12} and X are as defined above, with a compound of formula VIII



(VIII)

in which R^1 , R^2 , R^{13} , R^{14} are as defined in formula I and Y is an activated acid residue such
5 as 4-nitrophenoxy carbonyl or an activated aminocarbonyl equivalent such as $N=C=O$.
Particular values of Y include activated esters such as 4-nitrophenoxy carbonyl and tert-
butoxy carbonyl. A preferred value for Y is 4-nitrophenoxy carbonyl. Other values include
those in which YN is an isocyanate group. The reaction will generally be carried out in a
suitable solvent such as DMF (or other aprotic solvent) and in the presence of a non-
10 nucleophilic base such as DIEA.

The intermediate of formula VII may be prepared as follows.



a) Synthesis of Compound III

A compound of formula Ia is dissolved in a nonpolar aprotic solvent such as DCM or THF in the presence of a non-nucleophilic base such as DIEA then reacted with a solid support such as 2-chlorotrityl at room temperature for 2 h. After this time, any unreacted solid support (Compound II) is capped using methanol. The resin is then filtered and washed sequentially with DMF, DCM and DMF.

b) Synthesis of a compound of formula (n=4)

A compound of formula III / V ($n = 1-3$) is subjected to solid-phase peptide synthesis as described below:

PG² (in this example Fmoc) is removed from Compound III / V ($n = 1-3$) using 20% piperidine in DMF and the resulting resin washed sequentially with DMF, DCM and DMF. A

- 5 compound formula IV is preactivated by the addition of a coupling agent such as HBTU or HATU in polar aprotic solvent such as DMF or DMSO, then added to the deprotected the compound of formula III / V ($n = 1-3$). Peptide coupling is initiated by the addition of a non-nucleophilic base such as DIEA and the reaction mixture shaken for 1-2 h. The resin is then filtered and washed sequentially with DMF, DCM and DMF.

10 b) Synthesis of a compound of formula VI

PG² (in this example Fmoc) is removed from Compound V ($n = 4$) using 20% piperidine in DMF and the resulting resin washed sequentially with DMF, DCM and DMF. The compound of formula VI is released from the solid support without the loss of PG¹ by the rapid flow-wash of a compound of formula V ($n = 4$) with dilute acid in aprotic solvent and immediate

- 15 dilution of the product into a large volume of solvent. A flow wash of 2% TFA in DCM into an equivalent volume of water is an example of this procedure.

b) Synthesis of a compound of formula VII

DIEA or equivalent non-nucleophilic base is added to a compound of formula VI in polar aprotic solvent such as DMF or DMSO. The resulting solution of a compound of formula VI

- 20 is cyclised under conditions of high dilution by dropwise addition to a stirred solution of coupling agent such as PyBOP in polar aprotic solvent such as DMF or DMSO. The reaction mixture is evaporated to dryness and remaining acid-labile protecting groups (eg PG¹) removed using strong acid (TFA, HCl) with added scavengers (TIPS, p-cresol, water or thiocresol). The reaction mixture is again evaporated to dryness before purification by
- 25 RPHPLC to afford the compound of formula VII. In formula VII PG¹ is a suitable protecting group such as any acid labile nitrogen protecting group, for example, Boc, that is stable to basic conditions required to remove PG². PG² is any base labile nitrogen protecting group such as Fmoc that can be removed without also cleaving the linker L or removing PG¹;

- In the above process steps reference to a "coupling agent" refers to any group activating a
- 30 carboxylic acid towards nucleophilic attack. Examples include precursors to activated esters such as p-nitrophenol and hexafluorophenol, carbodiimide derivatives such as DIC and DCC, benzotriazolyl-tetramethylphosphonium salts such as BOP and PyBOP, benzotriazolyl-

12

tetramethyluronium salts such as HBTU and HATU. L is any extremely acid labile linker for carboxylic acids on solid support that is stable to conditions required to remove PG² such as the 2-chlorotrityl chloride linker, Rink acid resin, 4-hydroxymethyl-3-methoxyphenoxybutyric acid linker.

The novel processes for preparing the intermediates and the novel intermediates referred to
 5 herein are also features of the present invention.

Alternatively, a compound of formula (I) can be isolated from natural sources using the methodology of Examples 1 or 2.

The compounds of the invention may also be combined and/or co-administered with
 10 any antithrombotic agent with a different mechanism of action, such as an anticoagulant (for example a vitamin K antagonist, an unfractionated or low molecular weight heparin, a synthetic heparin fragment such as fondaparinux, a thrombin inhibitor, a factor Xa inhibitor or other coagulation factor/enzyme inhibitor, a recombinant coagulation factor such as a recombinant human activated protein C) or an antiplatelet agent (such as acetylsalicylic acid,
 15 dipyridamole, ticlopidine, clopidogrel or other ADP-receptor [such as a P2Y₁₂ or P2Y₁] antagonist, a thromboxane receptor and/or synthetase inhibitor, a fibrinogen receptor antagonist, a prostacyclin mimetic or a phosphodiesterase inhibitor).

The compounds of the invention may further be combined and/or coadministered with thrombolytics such as tissue plasminogen activator (natural, recombinant or modified),
 20 streptokinase, urokinase, prourokinase, anisoylated plasminogen-streptokinase activator complex (APSAC), animal salivary gland plasminogen activators, and the like, in the treatment of thrombotic diseases, in particular myocardial infarction, ischaemic stroke and massive pulmonary embolism.

Thus, in a further aspect the present invention provides a combination (combined
 25 and/or co-administered) of a compound of formula (I), wherein X is (CH₂)_mY(CH₂)_n; m and n are, independently, 1, 2, 3, 4, 5 or 6; provided that m + n is not more than 6; Y is a bond, O, S(O)_p, or S-S; R¹ is CO₂R¹⁵ or a carboxylic acid isostere such as S(O)₂OH, S(O)₂NHR¹⁵, PO(OR¹⁵)OH, PO(OR¹⁵)NH₂, B(OR¹⁵)₂, PO(R¹⁵)OH, PO(R¹⁵)NH₂ or tetrazole; R², R³, R⁴, R⁵ and R⁶ are, independently, hydrogen, C₁₋₆ alkyl (optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, SH, S(O)₃H, S(O)₄(C₁₋₆ alkyl), OC(O)(C₁₋₄ alkyl), CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, COOH, CONH₂, CONH(C₁₋₆ alkyl), NH₂, CNH(NH₂), or NHCNH(NH₂)), C₃₋₆ cycloalkyl(C₁₋₄)alkyl
 30 (wherein the cycloalkyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl,

CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)), heterocyclyl(C₁₋₄)alkyl
(wherein the heterocyclyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄
alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)), phenyl(C₁₋₄)alkyl
(wherein the phenyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃,
5 C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)) or heteroaryl(C₁₋₄)alkyl (wherein the
heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄
alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)); p and q are, independently, 0, 1 or 2; R⁷,
R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² and R¹³ are, independently, H or C₁₋₄ alkyl; R¹⁴ is H or C₁₋₄ alkyl; and,
R¹⁵ is H or C₁₋₄ alkyl; or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of
10 such a salt; and an antithrombotic agent with a different mechanism of action {such as an
anticoagulant (for example a vitamin K antagonist, an unfractionated or low molecular weight
heparin, a synthetic heparin fragment such as fondaparinux, a thrombin inhibitor, a factor Xa
inhibitor or a recombinant coagulation factor such as a recombinant human activated protein
C) or an antiplatelet agent (such as acetylsalicylic acid, dipyridamole, ticlopidine, clopidogrel
15 or other ADP-receptor [such as a P2Y₁₂ or P2Y₁] antagonist, a thromboxane receptor and/or
synthetase inhibitor, a fibrinogen receptor antagonist, a prostacyclin mimetic or a
phosphodiesterase inhibitor)} or a thrombolytic {such as tissue plasminogen activator
(natural, recombinant or modified), streptokinase, urokinase, prourokinase, anisoylated
plasminogen-streptokinase activator complex (APSAC), animal salivary gland plasminogen
20 activators}.

The compounds of the invention should have a selectivity for carboxypeptidase U over
carboxypeptidase N of >50:1, for example >100:1, using the assay described below.

The inhibiting effect of the compounds of the present invention was estimated using
the assay described in: Dirk Hendriks, Simon Scharpé and Marc van Sande, Clinical
25 Chemistry, 31, 1936-1939 (1985); and Wei Wang, Dirk F. Hendriks, Simon S. Scharpé, The
Journal of Biological Chemistry, 269, 15937-15944 (1994), using a substrate concentration of
4 mM.

The invention also provides a method of treating a condition where inhibition of
carboxypeptidase U is beneficial in a mammal suffering from, or at risk of, said condition,
30 which comprises administering to the mammal a therapeutically effective amount of a
compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate
of such a salt, as hereinbefore defined.

For the above-mentioned therapeutic uses the dosage administered will vary with the compound employed, the mode of administration, the treatment desired and the disorder indicated.

The compounds of formula (I) and pharmaceutically acceptable salts, solvates or solvates of salts thereof may be used on their own but will generally be administered in the form of a pharmaceutical composition in which the formula (I) compound, salt, solvate or solvate of salt (active ingredient) is in association with a pharmaceutically acceptable adjuvant, diluent or carrier. Depending on the mode of administration, the pharmaceutical composition will, for example, comprise from 0.05 to 99 %w (per cent by weight), such as from 0.05 to 80 %w, for example from 0.10 to 70 %w, such as from 0.10 to 50 %w, of active ingredient, all percentages by weight being based on total composition.

The present invention thus also provides a pharmaceutical composition comprising a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt, as hereinbefore defined, in association with a pharmaceutically acceptable adjuvant, diluent or carrier.

The invention further provides a process for the preparation of a pharmaceutical composition of the invention which comprises mixing a compound of formula (I), or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt, as hereinbefore defined, with a pharmaceutically acceptable adjuvant, diluent or carrier.

Also included in the invention are derivatives of compounds of formula (I) which have the biological function of compounds of formula (I), such as prodrugs. Prodrugs are, for example, methyl, (pivaloyloxy)methyl esters and [(ethoxycarbonyl)oxy]methyl esters of carboxylic acids.

The following Examples illustrate the invention.

EXAMPLE 1

This Example describes the isolation of Compounds 1 to 10.

General Experimental Procedures

Water was Milli-Q filtered, while all other solvents used were Omnisolv. A YMC basic C18 5uM, 21.2 mm x 150 mm, column and Hypersil BDS C18 5uM, 21.2 x 150 mm column were used for preparative HPLC. NMR spectra were recorded on a Varian Inova 600 or 500 MHz NMR spectrometer. Samples were dissolved in d₆-DMSO and chemical shifts were calculated relative to the solvent peak (DMSO ¹H □ 2.49 and ¹³C 39.5 ppm). Mass

14/

13

spectra were measured on a Fisons VG Platform II, using positive electrospray ionisation mode. The elution solvent was a mixture acetonitrile/water 50% at 0.1 ml/min.

Animal Material

The sponge (*Melophlus* sp.) was collected by SCUBA diving off Ribbon Reef No. 5, Australia and a voucher sample (G319104) is lodged at the Queensland Museum, Brisbane, Australia.

Extraction and Isolation

A freeze dried ground sample of the sponge *Melophlus* sp (128g) collected from Ribbon Reef No. 5 in far North Queensland, Australia was exhaustively extracted with methanol (2 l). The solvent was evaporated to yield a dark brown residue (28g). The residue was redissolved in a mixture of EtOAc (20 mL) and water (60 mL) and separated by droplet countercurrent chromatography with water as the stationary phase and a gradient from EtOAc to butanol as the mobile phase at 5 mL/min. Two minute fractions were collected and every second fraction analysed by electrospray mass spectrometry. Like fractions were combined yielding 5 fractions. Fraction 2 (320 mg) was separated by centrifugal partition chromatography (Sanki CPC, ascending mode) using a trisolvent mixture $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (7:13:8) with the lower phase as stationary phase. A flow rate of 2mL/min was used and two minute fractions were collected for 360: min. Every second fraction was analyzed by positive electrospray mass spectrometry and like fractions combined. Fractions 91-101 were combined to yield impure Compound 2 (10.8 mg) and fractions 107-120 were combined to yield impure Compound 1 (12.4 mg). The impure peptide fractions of Compounds 1 and 2 were each partitioned between aqueous TFA (1%) and hexane. The aqueous layers from each partition contained pure Compound 2 (9.5 mg) and Compound 1 (11.5 mg). Fractions 1, 3 and 4 from the original DCCC separation were combined with the remaining fractions from the CPC separation and preabsorbed onto C18 (3g). The preabsorbed fractions were further separated by C18 HPLC hypersil BDS C18 (5uM, 20mm x 150 mm) using a water/methanol gradient from water containing 1% TFA to methanol containing 1% TFA at 10 mL/min over 60 min. One minute fractions were collected and all fractions analyzed by electrospray mass spectrometry. Like fractions were combined. Fractions 51-58 contained peptides related to Compounds 1 and 2, and were combined (fraction A; 65 mg). This peptide fraction A was further purified by RP HPLC on YMC basic C18 5 uM, 20 mm x 150 mm elution with 65 % water (containing 1% TFA) and 35% MeCN (containing 1% TFA) at a flow rate of 10

mL/min. Twelve second fractions were collected for 36 minutes. Fractions 58-60 was pure Compound 2 (11 mg), fractions 67-69 was pure Compound 1 (11 mg), fractions 70-72 was pure Compound 3 (2 mg), fractions 73-77 was pure Compound 7 (11.2 mg), fractions 79-82 was pure Compound 4 (7.29 mg), fractions 91-96 was pure Compound 8 (8.75 mg), fractions 101-106 was pure Compound 9 (6.02 mg), fractions 118-125 was pure Compound 5 (2.08 mg), fractions 128-138 was pure Compound 10 (5.73 mg) and fractions 140-150 was pure Compound 6 (5.94 mg).

Compound 1: MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 826. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 1.

10 **Compound 2:** MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 876, 878. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 2.

Compound 3: MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 890, 892. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 3.

15 **Compound 4:** MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 840. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 4.

Compound 5: MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 860, 862. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 5.

Compound 6: MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 861, 863. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 6.

20 **Compound 7:** MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 895, 897. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 7.

Compound 8: MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 909, 911. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 8.

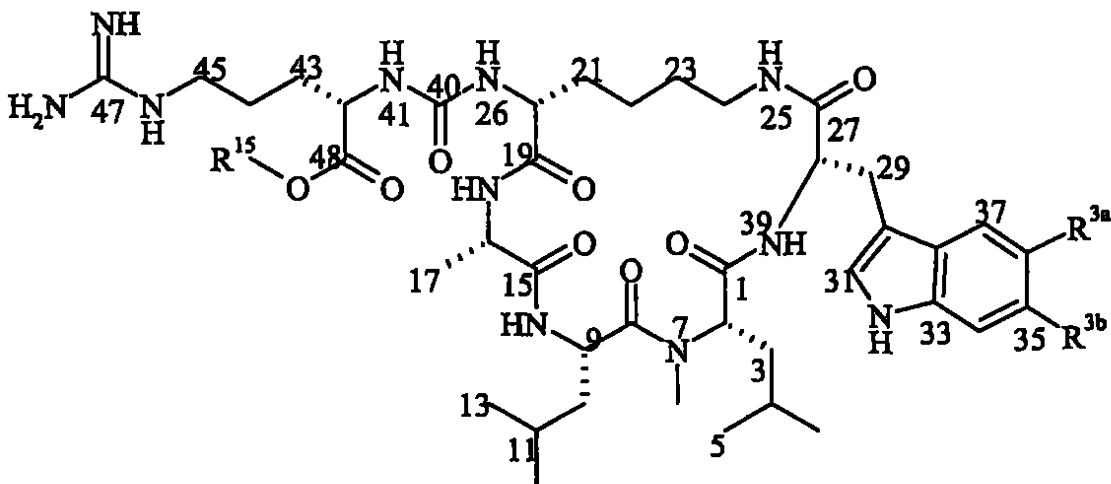
25 **Compound 9:** MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 909, 911. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 9.

Compound 10: MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 973, 975, 977. ^1H and ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): see Table 10.

After extensive studies including ^1H , gHSQC, gHMBC, and gCOSY experiments, Compounds 1-10 were identified as cyclic peptides. The absolute stereochemistry of
30 **Compound 1** was confirmed by single crystal X-ray diffraction analysis.

HA

Compounds 1-5



	R ^{3a}	R ^{3b}	R ¹⁵	
	H	H	H	Compound 1
5	OH	Cl	H	Compound 2
	OH	Cl	CH ₃	Compound 3
	H	H	CH ₃	Compound 4
	H	Cl	H	Compound 5

10 Table 1 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 1 in d₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	¹³ J _{C-H} correlations	COSY
N-Methyl leucine				
1	169.3 (s)	-	-	-
2	58.2 (d)	4.72 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	1, 3, 4, 7-NMe, 8	H3a, H3b
3	36.6 (t)	1.22 (m, 1H)	1, 2, 5, 6	H2, H3b, H4
		1.63 (m, 1H)	2, 4, 5, 6	H2, H3a, H4
4	24.3 (d)	1.34 (m, 1H)	2, 3, 5, 6	H3a, H3b, H5, H6
5	22.2 (q)	0.85 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	23.1 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	27.6 (q)	1.81 (s, 3H)	2, 8	-
Leucine				
8	172.8 (s)	-	-	-
9	45.7 (d)	4.77 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	10, 11, 8	H10a, H10b, H14
10	39.8 (t)	1.66 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11

		1.17 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	24.7 (d)	1.82 (m, 1H)	10	H10a, H10b, H12, H13
12	21.6 (q)	0.87 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	22.9 (q)	0.91 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.73 (d, 4.9 Hz, 1H)	10, 15, 16	H9
alanine				
15	174.1 (s)	-	-	-
16	47.9 (d)	4.20 (dq, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	15, 17	H17, H18
17	16.7 (q)	1.30 (d, 7.8 Hz, 3H)	15, 16	H16
18	-	7.20 (d, 4.9 Hz, 1H)	19, 20, 16, 17	H16
lysine				
19	172.7 (s)	-	-	-
20	54.6 (d)	3.92 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22, 40	H21, H26
21	32.5 (t)	1.65 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.3 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
23	28.3 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
24	38.0 (t)	2.75 (m, 1H)	27	H23, H24b, H25
		3.58 (m, 1H)	22, 23	H23, H24a, H25
25	-	7.44 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	27	H24a, H24b
26	-	6.45 (d, 6.8 Hz, 1H)	39, 20, 21	H20
tryptophan				
27	171.4 (s)	-	-	-
28	53.9 (d)	4.40 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	1, 27, 30	H29a, H29b, H39
29	27.9 (t)	2.88 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29b
		3.35 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29a
30	110.4 (s)	-	-	-
31	124.0 (d)	6.68 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
32	-	10.80 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
33	136.5 (s)	-	-	-
34	111.5 (d)	7.24 (d, 7.8 Hz, 1H)	36, 38	H35, H36
35	121.0 (d)	7.00 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	33, 37	H34, H36
36	118.5 (d)	6.92 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	34, 38	H35, H37
37	116.9 (d)	7.20 (d, 7.8 Hz, 1H)	35, 33	H36, H35
38	127.0 (s)	-	-	-
39		8.62 (d, 8.8 Hz, 1H)	1, 28, 29	H28
40	157.5 (s)	-	-	-
arginine				

41	-	6.42 (d, 7.8 Hz, 1H)	43, 42, 48, 40	H42
42	52.9 (d)	4.05 (ddd, 5.9, 7.3, 7.8 Hz, 1H)	41, 43, 44, 48	H41, H43a, H43b
43	29.1 (t)	1.52 (m, 1H)	-	H42, H44, H43b
		1.69 (m, 1H)	-	H42, H43a, H44
44	25.1 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H43a, H43b, H45
45	40.0 (t)	3.06 (dt, 5.9, 5.9 Hz, 2H)	43, 44, 47	H45, H46
46	-	7.64 (t, 5.9 Hz, 1H)	45, 47	H45
47	156.9 (s)	-	-	-
48	175.1 (s)	-	-	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

Table 2 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 2 in *d*₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, <i>J</i> Hz)	¹³ <i>J</i> _{CH} correlations	COSY
N-Methyl leucine				
1	169.4 (s)	-	-	-
2	58.4 (d)	4.72 (dd, 5.9, 7.8 Hz, 1H)	1, 3, 4, 8, 7-NMe	H3a, H3b
3	36.5 (t)	1.22 (m, 1H)	2, 4, 5, 6	H2, H3b, H4
		1.63 (m, 1H)	2, 4, 5, 6	H2, H3a, H4
4	23.8 (d)	1.32 (m, 1H)	2, 3, 5, 6	H3a, H3b, H5, H6
5	22.1 (q)	0.86 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	22.8 (q)	0.83 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	27.7 (q)	1.80 (s, 3H)	2, 8	-
Leucine				
8	172.9 (s)	-	-	-
9	47.8 (d)	4.77 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	39.9 (t)	1.66 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11
		1.17 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	23.4 (d)	1.82 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	22.5 (q)	0.88 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	23.0 (q)	0.93 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.74 (d, 5.9 Hz, 1H)	9, 10, 15	H9
alanine				
15	174.0 (s)	-	-	-
16	48.0 (d)	4.17 (dq, 3.8, 6.8 Hz, 1H)	15, 17	H17, H18
17	16.8 (q)	1.29 (d, 6.8 Hz, 3H)	15, 16	H16
18		7.16 (d, 3.9 Hz, 1H)	19, 16, 17	H16

lysine				
19	172.5 (s)	-	-	-
20	53.9 (d)	3.92 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22, 40	H21, H26
21	32.9 (t)	1.57 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
23	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
24	37.0 (t)	2.75 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25
		3.56 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	-	7.45 (dd, 1.2, 6.8 Hz, 1H)	27, 19	H24a, H24b
26	-	6.45 (d, 6.8 Hz, 1H)	-	H20
tryptophan				
27	170.6 (s)	-	-	-
28	53.7 (d)	4.38 (ddd, 2.9, 8.8, 12.7 Hz, 1H)	-	H29a, H29b, H39
29	27.9 (t)	2.83 (dd, 12.7, 12.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29b
		3.31 (dd, 2.9, 12.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29a
30	109.3 (s)	-	-	-
31	124.1 (d)	6.60 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
32	-	10.60 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
33	131.1 (s)	-	-	-
34	111.1 (d)	7.20 (s, 1H)	35, 36, 38	-
35	115.0 (s)	-	-	-
36	145.9 (s)	-	-	-
37	102.1 (d)	7.01 (s, 1H)	30, 35, 33, 36	-
38	126.3 (s)	-	-	-
39	-	8.64 (d, 9.8 Hz, 1H)	1	H28
40	157.7 (s)	-	-	-
arginine				
41	-	6.36 (d, 5.6 Hz, 1H)	41, 42, 47	H42
42	52.7 (d)	4.07 (ddd, 5.6, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	43, 44, 48	H41, H43a, H43b
43	29.2 (t)	1.52 (m, 1H)	-	H42, H43b, H44
		1.69 (m, 1H)	-	H42, H43a, H44
44	25.3 (t)	1.46 (m, 2H)	-	H43a, H43b, H45
45	40.7 (t)	3.06 (m, 2H)	43, 44, 47	H46, H45
46	-	7.53 (m, 1H)	45, 47	H45
47	157.0 (s)	-	-	-
48	174.5 (s)	-	-	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

Table 3 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY

NMR data for Compound 3 in d_6 -DMSO

Atom No	^{13}C (mult) ^a	^1H (mult, J Hz)	$^{23}\text{J}_{\text{CH}}$ correlations	COSY
N-Methyl leucine				
1	168.9 (s)	-	-	-
2	57.2 (d)	4.77 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	8	H3a, H3b
3	35.9 (t)	1.20 (m, 1H)	-	H2, H3b, H4
		1.71 (m, 1H)	-	H2, H3a, H4
4	24.2 (d)	1.35 (m, 1H)	-	H3a, H3b, H5, H6
5	23.0 (q)	0.85 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	23.3 (q)	0.88 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	26.9 (q)	1.87 (s, 3H)	2, 8	-
Leucine				
8	172.2 (s)	-	-	-
9	47.8 (d)	4.79 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	39.4 (t)	1.70 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11
		1.22 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	24.1 (d)	1.84 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	21.5 (q)	0.90 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	23.0 (q)	0.95 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.76 (d, 4.9 Hz, 1H)	15	H9
alanine				
15	173.6 (s)	-	-	-
16	47.5 (d)	4.19 (dq, 5.8, 6.8 Hz, 1H)	-	H17, H18
17	16.5 (q)	1.32 (d, 6.8 Hz, 3H)	15, 16	H16
18	-	7.22 (d, 5.9 Hz, 1H)	19	H16
lysine				
19	171.9 (s)	-	-	-
20	54.2 (d)	3.94 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22	H21, H26
21	31.7 (t)	1.60 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
23	27.2 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
24	38.1 (t)	2.78 (m, 1H)	27	H23, H24b, H25
		3.60 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	-	7.42 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	27	H24a, H24b
26	-	6.31 (d, 6.8 Hz, 1H)	40	H20
tryptophan				
27	172.8 (s)	-	-	-
28	53.7 (d)	4.39 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	-	H29a, H29b, H39

29	27.9 (t)	2.86 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H) 3.27 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38 28, 27, 30, 31, 38	H28, H29b H28, H29a
30	109.4 (s)	-	-	-
31	124.5 (d)	6.62 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
32	-	10.65 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
33	130.4 (s)	-	-	-
34	111.2 (d)	7.22 (s, 1H)	36, 38	-
35	115.3 (s)	-	-	-
36	145.6 (s)	-	-	-
37	102.5 (d)	7.00 (s, 1H)	30, 35, 33	-
38	125.9 (s)	-	-	-
39	-	8.67 (d, 8.8 Hz, 1H)		H28
40	157.2 (s)	-	-	-
arginine				
41	-	6.50 (d, 7.8 Hz, 1H)	40	H42
42	51.9 (d)	4.05 (ddd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	47	H41, H43a, H43b
43	28.7 (t)	1.56 (m, 1H) 1.74 (m, 1H)	- -	H42, H43b, H44 H42, H43a, H44
44	24.9 (t)	1.46 (m, 2H)	-	H43a, H43b, H45
45	39.7 (t)	3.09 (dt, 5.9, 5.9 Hz, 2H)	47	H46, H45
46	-	7.42 (t, 5.9 Hz, 1H)	47	H45
47	156.4 (s)	-	-	-
48	173.1 (s)	-	-	-
48-Me	51.8 (q)	3.62 (s, 3H)	48	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

Table 4 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), and COSY
NMR data for Compound 4 in *d*₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, <i>J</i> Hz)	COSY
N-Methyl leucine			
1	n.o.	-	-
2	57.9 (d)	4.78 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	H3a, H3b
3	36.1 (t)	1.27 (m, 1H) 1.68 (m, 1H)	H2, H3b, H4 H2, H3a, H4
4	24.1 (d)	1.37 (m, 1H)	H3a, H3b, H5, H6
5	23.7 (q)	0.79 (d, 6.8 Hz, 3H)	H4
6	20.9 (q)	0.83 (d, 6.8 Hz, 3H)	H4
NMe	27.3 (q)	1.81 (s, 3H)	-
Leucine			
8	n.o.	-	-

9	47.0 (d)	4.78 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	H10a, H10b, H14
10	40.0 (t)	1.63 (m, 1H)	H9, H10b, H11
		1.25 (m, 1H)	H9, H10a, H11
11	24.2 (d)	1.83 (m, 1H)	H10a, H10b, H12, H13
12	20.7 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	H11
13	23.9 (q)	0.91 (d, 6.8 Hz, 1H)	H11
14	-	8.79 (d, 4.9 Hz, 1H)	H9
alanine			
15	n.o.	-	-
16	47.3 (d)	4.19 (dq, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H17, H18
17	16.2 (q)	1.33 (d, 7.8 Hz, 3H)	H16
18	-	7.29 (d, 4.9 Hz, 1H)	H16
lysine			
19	n.o.	-	-
20	54.3 (d)	3.87 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	H21, H26
21	32.1 (t)	1.60 (m, 2H)	H20, H22a, H22b
22	21.1 (t)	1.40 (m, 1H)	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	H21, H22a, H23
23	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	H22a, H22b, H24a, H24b
24	38.1 (t)	2.75 (m, 1H)	H23, H24b, H25
		3.59 (m, 1H)	H23, H24a, H25
25	-	7.41 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	H24a, H24b
26	-	6.39 (d, 6.8 Hz, 1H)	H20
tryptophan			
27	n.o.	-	-
28	53.8 (d)	4.38 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	H29a, H29b, H39
29	27.6 (t)	2.81 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	H28, H29b
		3.37 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	H28, H29a
30	n.o.	-	-
31	124.5 (d)	6.72 (bs, 1H)	H32
32	-	10.80 (bs, 1H)	H31
33	n.o.	-	-
34	111.2 (d)	7.37 (d, 7.8 Hz, 1H)	H35
35	120.2 (d)	6.89 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H34, H36
36	121.0 (d)	7.00 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H35, H37
37	117.8 (d)	7.21 (d, 7.8 Hz, 1H)	H36, H35
38	n.o.	-	-
39	-	8.64 (d, 8.8 Hz, 1H)	H28
40	n.o.	-	-
arginine			

41	-	6.49 (d, 7.8 Hz, 1H)	H42
42	52.2 (d)	4.19 (ddd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H41, H43a, H43b
43	28.0 (t)	1.52 (m, 1H)	H42, H43b, H44
		1.71 (m, 1H)	H42, H43a, H44
44	24.7 (t)	1.40 (m, 2H)	H43a, H43b, H45
45	40.1 (t)	3.07 (dt, 5.9, 5.9 Hz, 2H)	H46, H45
46	-	7.42 (t, 5.9 Hz, 1H)	H45
47	n.o.		
48	n.o.	-	-
48-Me	52.1 (q)	3.58 (s, 3H)	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

n.o. = not observed

Table 5 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 5 in *d*₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, <i>J</i> Hz)	²³ J _{Cα} correlations	COSY
N-Methyl leucine				
1	168.9 (s)	-	-	-
2	57.5 (d)	4.76 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	1, 3, 8, 7-NMe	H3a, H3b
3	36.6 (t)	1.27 (m, 1H)	-	H2, H3b, H4
		1.65 (m, 1H)	-	H2, H3a, H4
4	24.4 (d)	1.34 (m, 1H)	-	H3a, H3b, H5, H6
5	23.7 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	21.2 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	27.5 (q)	1.77 (s, 3H)	2, 8	-
Leucine				
8	172.6 (s)	-	-	-
9	46.8 (d)	4.77 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	40.0 (t)	1.68 (m, 1H)	9, 11	H9, H10b, H11
		1.22 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	24.5 (d)	1.82 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	21.4 (q)	0.86 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	23.0 (q)	0.90 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.77 (d, 4.9 Hz, 1H)	9, 10, 15	H9
alanine				
15	173.8 (s)	-	-	-
16	48.2 (d)	4.16 (dq, 4.9, 7.8 Hz, 1H)	15, 17	H17, H18
17	16.8 (q)	1.27 (d, 7.8 Hz, 3H)	15, 16	H16
18	-	7.18 (d, 4.9 Hz, 1H)	19	H16
lysine				

19	172.3 (s)	-	-	-
20	54.1 (d)	3.91 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22	H21, H26
21	32.1 (t)	1.60 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.6 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
23	27.1 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
24	38.1 (t)	2.76 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25
		3.53 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	-	7.50 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	-	H24a, H24b
26	-	6.36 (d, 6.8 Hz, 1H)	40	H20
tryptophan				
27	173.5 (s)	-	-	-
28	53.8 (d)	4.41 (ddd, 2.9, 9.6, 11.7 Hz, 1H)	-	H29a, H29b, H39
29	27.7 (t)	2.90 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	30, 31, 38	H28, H29b
		3.30 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	30, 31, 38	H28, H29a
30	110.9 (s)	-	-	-
31	124.9 (d)	6.78 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
32	-	11.00 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
33	136.7 (s)	-	-	-
34	111.3 (d)	7.30 (d, 1.8 Hz, 1H)	36, 38	H36
35	125.8 (s)	-	-	-
36	118.7 (d)	6.93 (dd, 7.8, 1.8 Hz, 1H)	38, 34	H34, H37
37	118.3 (d)	7.42 (d, 7.8 Hz, 1H)	35, 33	H36
38	125.5 (s)	-	-	-
39		8.64 (d, 9.6 Hz, 1H)	1	H28
40	157.5 (s)	-	-	-
arginine				
41	-	6.37 (d, 7.8 Hz, 1H)	40	H42
42	52.6 (d)	4.05 (ddd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	43, 44, 48	H41, H43a, H43b
43	29.5 (t)	1.50 (m, 1H)	-	H42, H43b, H44
		1.67 (m, 1H)	-	H42, H43a, H44
44	25.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H43a, H43b, H45
		1.19 (m, 1H)	-	-
45	40.5 (t)	3.06 (m, 2H)	47	H44, H46
46	-	7.50 (m, 1H)	-	H45
47	156.8 (s)	-	-	-
48	174.3 (s)	-	-	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

Compound 6

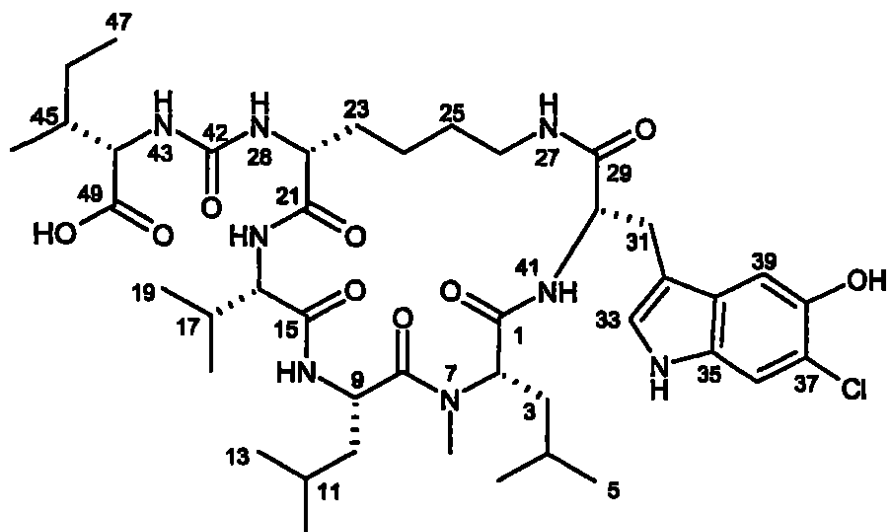


Table 6 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 6 in d₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	^{2,3} J _{CH} correlations	COSY
N-Methyl leucine				
1	169.4 (s)	-	-	-
2	58.0 (d)	4.72 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	1, 3, 4, 8, 7-NMe	H3a, H3b
3	36.2 (t)	1.25 (m, 1H)	1, 2, 4	H2, H3b, H4
		1.60 (m, 1H)	2, 4	H2, H3a, H4
4	23.0 (d)	1.93 (m, 1H)	2, 3	H3a, H3b, H5, H6
5	23.7 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	24.0 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	27.0 (q)	1.90 (s, 3H)	2, 8	-
Leucine				
8	172.5 (s)	-	-	-
9	47.8 (d)	4.70 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	39.2 (t)	1.70 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11
		1.22 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	27.0 (d)	1.82 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	21.0 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	24.9 (q)	0.96 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.69 (d, 4.9 Hz, 1H)	9, 10, 15	H9
valine				
15	172.7 (s)	-	-	-
16	57.8 (d)	3.92 (dd, 5.8, 7.8 Hz, 1H)	-	H17, H20
17	29.7 (d)	1.95 (m, 1H)	16, 18, 19	H16, H18, H19
18	19.4 (q)	0.85 (d, 7.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	19.0 (q)	1.05 (d, 7.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17

20	-	6.80 (d, 5.9 Hz, 1H)	16, 17, 19	H16
lysine				
21	172.5 (s)	-	-	-
22	54.8 (d)	3.91 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22, 42	H23, H28
23	31.5 (t)	1.60 (m, 2H)	-	H22, H24a, H24b
24	20.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25
		1.10 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H24a, H24b, H26a, H26b
26	38.1 (t)	2.80 (m, 1H)	27	H25, H26b, H27
		3.61 (m, 1H)	-	H25, H26a, H27
27	-	7.40 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	27	H26a, H26b
28	-	6.47 (d, 5.9 Hz, 1H)	42, 22, 23	H22
tryptophan				
29	171.6 (s)	-	-	-
30	53.2 (d)	4.41 (ddd, 2.9, 8.3, 11.7 Hz, 1H)	-	H31a, H31b, H41
31	27.9 (t)	2.90 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	29, 33, 32, 30	H30, H31b
		3.40 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	30, 32, 33	H30, H31a
32	109.5 (s)	-	-	-
33	125.5 (d)	6.65 (bs, 1H)	29, 30, 35, 40	H34
34	-	10.64 (bs, 1H)	32, 33, 35, 40	H33
35	130.4 (s)	-	-	-
36	111.1 (d)	7.20 (s, 1H)	33, 37, 38, 40	-
37	115.0 (s)	-	-	-
38	146.3 (s)	-	-	-
39	102.3 (d)	7.00 (s, 1H)	35, 33, 32, 37, 38	-
40	126.0 (s)	-	-	-
41	-	8.77 (d, 8.8 Hz, 1H)	1	H30
42	157.6 (s)	-	-	-
isoleucine				
43	-	6.35 (d, 7.8 Hz, 1H)	42	H44
44	56.9 (d)	4.06 (dd, 5.9, 7.3 Hz, 1H)	42, 45, 46, 48, 49	H43, H45
45	36.8 (d)	1.70 (m, 1H)	-	H44, H46b, H46a, H48
46	24.7 (t)	1.40 (m, 1H)	44, 47, 48	H46b, H47, H45
		1.15 (m, 1H)	44, 47, 48	H47, H45, H46a
47	11.7 (q)	0.82 (t, 6.8 Hz, 3H)	45, 46	H46a, H46b
48	15.4 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	44, 45, 46	H45
49	173.7 (s)	-	-	-

*Chemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

Compound 7

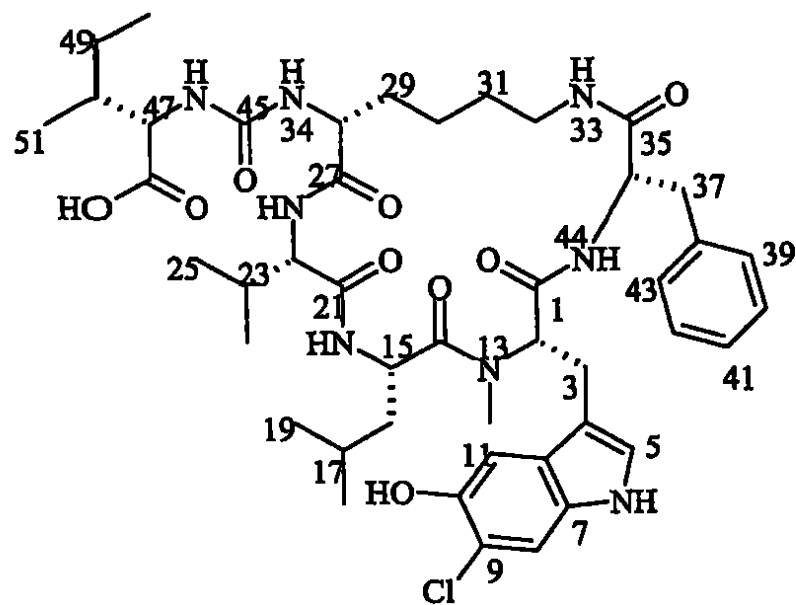


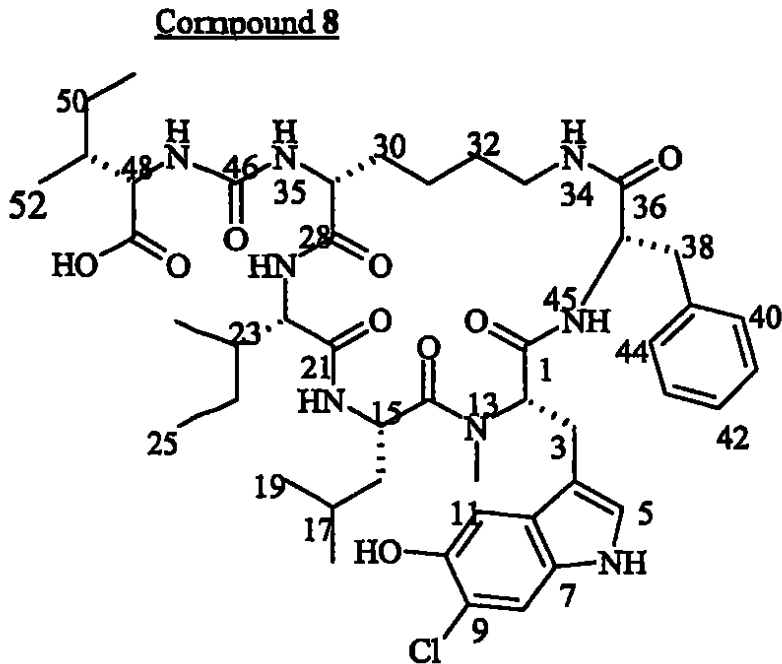
Table 7 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 7 in *d*₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, <i>J</i> Hz)	¹³ <i>J</i> _{CH} correlations	COSY
N-Methyl tryptophan				
1	169.8 (s)	-	-	-
2	61.0 (d)	4.66 (dd, 2.6, 10.4 Hz, 1H)	1, 3, 4, 14; 13-NMe	H3a, H3b
3	22.3 (t)	2.73 (m, 1H) 3.07 (m, 1H)	1, 5, 4, 2, 12 2, 4, 5, 12	H2, H3b H2, H3a
4	108.9 (s)	-	-	-
5	124.3 (d)	6.87 (bs, 1H)	3, 4, 7, 12	H6
6	-	10.66 (bs, 1H)	4, 5, 7, 12	H5
7	130.7 (s)	-	-	-
8	111.8 (d)	7.26 (s, 1H)	7, 9, 10, 12	-
9	115.8 (s)	-	-	-
10	145.8 (s)	-	-	-
11	102.7 (d)	6.98 (s, 1H)	4, 7, 9, 10, 12	-
12	126.8 (s)	-	-	-
NMe	27.5 (q)	1.91 (s, 3H)	2, 14	-
Leucine				
14	172.5 (s)	-	-	-
15	46.9 (d)	4.21 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	16, 21	H16a, H16b, H20
16	36.9 (t)	-0.50 (dd, 11.7, 11.7 Hz, 1H) 0.90 (m, 1H)	14, 17, 18 -	H15, H16b, H17 H15, H16a, H17
17	24.8 (d)	1.40 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H18, H19

18	19.7 (q)	0.26 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	22.0 (q)	0.40 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	8.42 (d, 4.3 Hz, 1H)	15, 16, 21	H15
valine				
21	172.2 (s)	-	-	-
22	57.6 (d)	3.79 (dd, 6.9, 7.8 Hz, 1H)	23, 24, 25	H23, H26
23	30.0 (d)	1.90 (m, 1H)	22, 24, 25	H22, H24, H25
24	18.9 (q)	0.86 (d, 7.8 Hz, 3H)	22, 23, 25	H23
25	18.8 (q)	0.93 (d, 7.8 Hz, 3H)	22, 23, 24	H23
26	-	6.74 (d, 6.9 Hz, 1H)	22, 23, 27	H22
lysine				
27	171.9 (s)	-	-	-
28	53.8 (d)	3.86 (ddd, 5.9, 6.9, 6.8 Hz, 1H)	27, 29, 30, 45	H29, H34
29	31.3 (t)	1.54 (m, 2H)	-	H28, H34
30	20.2 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H29, H30b, H31
		1.10 (m, 1H)	-	H29, H30a, H31
31	28.2 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H30a, H30b, H32a, H32b
32	37.9 (t)	2.86 (m, 1H)	35	H31, H32b, H33
		3.58 (m, 1H)	30, 31, 35	H31, H32a, H33
33	-	7.40 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	32, 35	H32a, H32b
34	-	6.43 (d, 6.9 Hz, 1H)	27, 29, 45	H28
phenylalanine				
35	171.0 (s)	-	-	-
36	54.8 (d)	4.57 (ddd, 2.9, 9.5, 11.7 Hz, 1H)	1, 35, 37	H37a, H37b, H44
37	37.9 (t)	2.75 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	35, 36, 38, 39, 43	H36, H37b
		3.40 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	36, 38, 39, 43	H36, H37a
38	138.6 (s)	-	-	-
39	128.9 (d)	7.07 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 38, 41, 43	H40, H41
40	127.9 (d)	7.22 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	38, 42	H39, H41
41	126.2 (d)	7.15 (t, 7.8 Hz, 1H)	39, 43	H40, H42
42	127.9 (d)	7.22 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	38, 40	H41, H43
43	128.29 (d)	7.07 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 38, 39, 41	H42
44	-	8.76 (d, 9.5 Hz, 1H)	1, 36, 37	H36
45	157.3 (s)	-	-	-
isoleucine				
46	-	6.28 (d, 8.7 Hz, 1H)	45, 47, 52	H47
47	56.6 (d)	4.04 (dd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	45, 48, 49, 51, 52	H46, H48
48	36.9 (d)	1.71 (m, 1H)	47, 49, 50, 51	H47, H49b, H51
49	24.5 (t)	1.35 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H48, H49b, H50
		1.10 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H48, H49a, H50
50	11.1 (q)	0.83 (t, 6.8 Hz, 3H)	48, 49	H49a, H49b

51	15.6 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	47, 48, 49	H48
52	173.8 (s)	-	-	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments



5 Table 8 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz) and COSY
NMR data for Compound 8 in d₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	COSY
N-Methyl tryptophan			
1	n.o.	-	-
2	60.8 (d)	4.65 (dd, 2.6, 9.9 Hz, 1H)	H3a, H3b
3	21.9 (t)	2.73 (m, 1H)	H2, H3b
	-	3.08 (m, 1H)	H2, H3a
4	n.o.	-	-
5	124.7 (d)	6.87 (d, 1.9 Hz, 1H)	H6
6		10.66 (bs, 1H)	H5
7	n.o.	-	-
8	111.5 (d)	7.23 (s, 1H)	-
9	n.o.	-	-
10	n.o.	-	-
11	103.4 (d)	6.94 (s, 1H)	-
12	n.o.	-	-
NMe	27.4 (q)	1.90 (s, 3H)	-
Leucine			

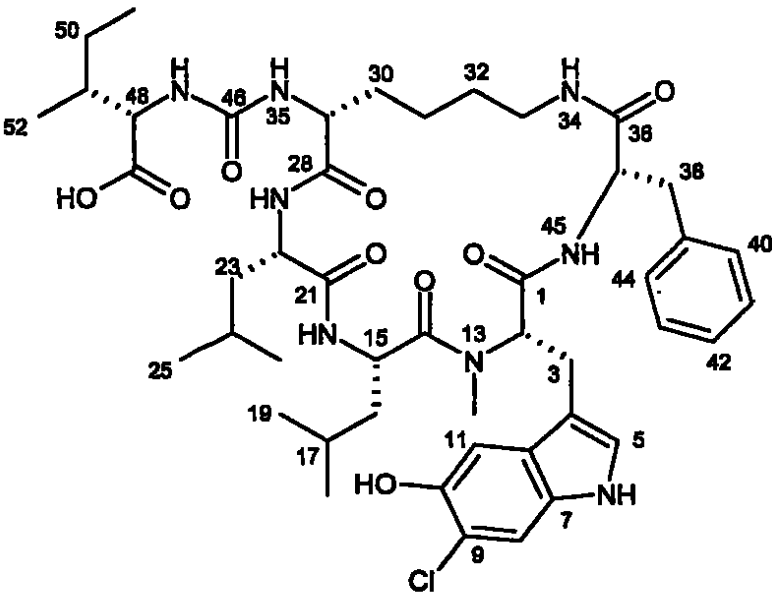
14	n.o.	-	-
15	47.4 (d)	4.18 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	H16a, H16b, H20
16	37.0 (t)	-0.50 (dd, 9.8, 9.8 Hz, 1H)	H15, H16b, H17
		0.91 (m, 1H)	H15, H16a, H17
17	24.9 (d)	1.40 (m, 1H)	H16a, H16b, H19, H18
18	19.5 (q)	0.22 (d, 6.8 Hz, 3H)	H17
19	22.3 (q)	0.36 (d, 6.8 Hz, 3H)	H17
20	-	8.40 (d, 4.8 Hz, 1H)	H15
isoleucine			
21	n.o.	-	-
22	55.8 (d)	3.93 (dd, 7.8, 8.2 Hz, 1H)	H23, H27
23	37.0 (d)	1.72 (m, 1H)	H22, H24a, H24b, H26
24	24.2 (t)	1.08 (m, 1H)	H24b, H23, H25
		1.30 (m, 1H)	H24a, H23, H25
25	12.0 (q)	0.82 (d, 7.0 Hz, 3H)	H24a, H24b
26	15.7 (q)	0.83 (d, 7.0 Hz, 3H)	H23
27	-	6.70 (d, 6.9 Hz, 1H)	H22
lysine			
28	n.o.	-	-
29	54.3 (d)	3.85 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	H30, H35
30	31.8 (t)	1.54 (m, 1H)	H29, H30b, H31a, H31b
		1.72 (m, 1H)	H29, H30a, H31a, H31b
31	24.9 (t)	1.40 (m, 1H)	H32, H31b, H30a, H30b
		1.10 (m, 1H)	H32, H31a, H30a, H30b
32	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	H31a, H31b, H33a, H33b
33	38.0 (t)	2.80 (m, 1H)	H32, H33b, H34
		3.55 (m, 1H)	H32, H33a, H34
34	-	7.43 (dd, 1.2, 8.8 Hz, 1H)	H33a, H33b
35	-	6.45 (d, 6.8 Hz, 1H)	H29
phenylalanine			
36	n.o.	-	-
37	54.5 (d)	4.58 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	H38a, H38b, H45
38	37.4 (t)	2.73 (dd, 11.7, 11.7 Hz, 1H)	H37, H38b
		3.37 (dd, 2.9, 11.7 Hz, 1H)	H37, H38a
39	n.o.	-	-
40	128.3 (d)	7.05 (d, 7.8 Hz, 1H)	H41, H42
41	128.0 (d)	7.19 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H40, H42
42	125.9 (d)	7.14 (t, 7.8 Hz, 1H)	H41, H43
43	128.0 (d)	7.19 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H42, H44
44	128.3 (d)	7.05 (d, 7.8 Hz, 1H)	H43, H42
45	-	8.68 (d, 8.8 Hz, 1H)	H37
46	n.o.	-	-

isoleucine			
47	-	6.29 (d, 8.8 Hz, 1H)	H48
48	56.3 (d)	4.01 (dd, 4.9, 7.8, Hz, 1H)	H47, H49
49	38.3 (d)	1.71 (m, 1H)	H48, H50, H50b, H52
50	22.8 (t)	1.38 (m, H)	H50b, H49, H51
		1.01 (m, 1H)	H50a, H49, H51
51	11.4 (q)	0.79 (t, 6.8 Hz, 3H)	H50a, H50b
52	15.8 (q)	0.79 (d, 6.8 Hz, 3H)	H49
53	n.o.	-	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

n.o. = not observed

Compound 9



5 Table 9 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 9 in d₆-DMSO

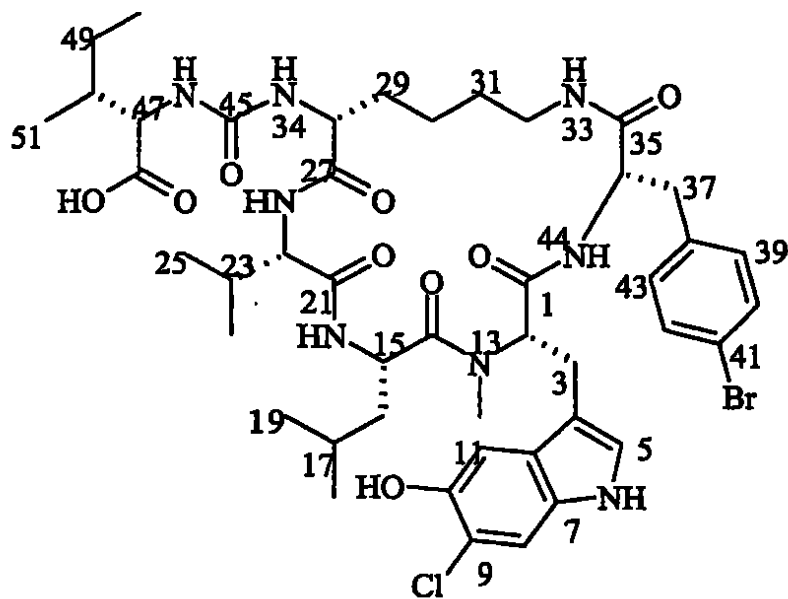
Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	²³ J _{CH} correlations	COSY
N-Methyl tryptophan				
1	169.5 (s)	-	-	-
2	60.8 (d)	4.69 (dd, 2.6, 10.4 Hz, 1H)	1	H3a, H3b
3	21.7 (t)	2.76 (m, 1H)	2, 4, 12	H2, H3b
		3.04 (m, 1H)	2, 4, 12	H2, H3a
4	108.9 (s)	-	-	-
5	124.3 (d)	6.88 (bs, 1H)	4, 7, 12	H6
6		10.66 (bs, 1H)	4, 5, 7, 12	H5
7	130.2 (s)	-	-	-

8	111.8 (d)	7.27 (s, 1H)	9, 10, 12	-
9	115.8 (s)	-	-	-
10	145.9 (s)	-	-	-
11	102.7 (d)	6.99 (s, 1H)	4, 7, 9, 10	-
12	126.1 (s)	-	-	-
NMe	27.4 (q)	1.91 (s, 3H)	2, 14	-
Leucine				
14	172.5 (s)	-	-	-
15	46.7 (d)	4.22 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H16a, H16b, H20
16	37.4 (t)	-0.49 (dd, 9.8, 9.8 Hz, 1H)	18	H15, H16b, H17
		0.95 (m, 1H)	-	H15, H16a, H17
17	23.1 (d)	1.40 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H19, H18
18	19.7 (q)	0.25 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	22.3 (q)	0.42 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	8.47 (d, 4.3 Hz, 1H)	21	H15
leucine				
21	173.5 (s)	-	-	-
22	50.7 (d)	4.03 (td, 7.8, 6.9 Hz, 1H)	21, 23	H23, H27
23	39.7 (t)	1.46 (m, 2H)	-	H22, H24
24	23.3 (d)	1.67 (m, 1H)	15, 16	H23, H25, H26
25	21.6 (q)	0.82 (d, 7.0 Hz, 3H)	23, 24, 26	H24
26	22.8 (q)	0.88 (d, 7.0 Hz, 3H)	23, 24, 25	H24
27	-	6.86 (d, 6.9 Hz, 1H)	28	H22
lysine				
28	172.2 (s)	-	-	H30, H35
29	54.4 (d)	3.88 (ddd, 5.9, 6.3, 6.8 Hz, 1H)	28, 30, 31	H29, H31a, H31b
30	32.1 (t)	1.54 (m, 2H)	-	H30, H31b, H32
31	20.2 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H30, H31a, H32
		1.10 (m, 1H)	-	H30, H22a, H23
32	28.1 (t)	1.42 (m, 2H)	-	H31a, H31b, H33a, H33b
33	38.3 (t)	2.84 (m, 1H)	-	H32, H33b, H34
		3.57 (m, 1H)	-	H32, H33a, H34
34	-	7.38 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	-	H33a, H33b
35	-	6.35 (d, 6.8 Hz, 1H)	46	H29
phenylalanine				
36	171.4 (s)	-	-	-
37	54.5 (d)	4.52 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	36	H38a, H38b, H45
38	37.9 (t)	2.74 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	39, 40, 44	H37, H38b
		3.55 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H27, H38a
39	138.3 (s)	-	-	-

40	128.7 (d)	7.08 (d, 8.0 Hz, 1H)	42, 44	H41, H42
41	129.2 (d)	7.23 (dd, 8.0, 8.0 Hz, 1H)	39, 43	H40, H42
42	126.6 (d)	7.17 (t, 8.0 Hz, 1H)	40, 44	H41, H43, H40, H44
43	129.2 (d)	7.23 (dd, 8.0, 8.0 Hz, 1H)	39, 41	H42, H44
44	128.7 (d)	7.08 (d, 8.0 Hz, 1H)	40, 38, 42	H43, H42
45	-	8.71 (d, 8.8 Hz, 1H)	1	H37
46	157.0 (s)	-	-	-
isoleucine				
47	-	6.26 (d, 8.7 Hz, 1H)	-	H48
48	56.9 (d)	4.03 (dd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	46, 49, 50, 52, 53	H47, H49
49	37.6 (d)	1.70 (m, 1H)	-	H48, H50b, H50a, H52
50	24.6 (t)	1.35 (m, 1H)	48, 49, 51, 52	H49, H50a, H50b, H51
		1.10 (m, 1H)	49, 51, 52	H49, H50a, H50b, H51
51	11.7 (q)	0.86 (t, 6.8 Hz, 3H)	49, 50	H50a, H50b
52	15.8 (q)	0.85 (d, 6.8 Hz, 3H)	48, 49, 50	H49
53	173.8 (s)	-	-	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

Compound 10



5 Table 10 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 10 in *d*₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	²³ J _{CH} correlations	COSY
N-Methyl tryptophan				
1	169.8 (s)	-	-	-
2	60.9 (d)	4.66 (dd, 2.9, 10.7 Hz, 1H)	1, 3, 4, 14, 13-NMe	H3a, H3b
3	21.9 (t)	2.77 (m, 1H)	2, 4, 5	H2, H3b
		3.07 (m, 1H)	2, 4, 5	H2, H3a
4	109.3 (s)	-	-	-
5	126.1 (d)	6.89 (d, 2.0 Hz, 1H)	4, 7, 12	H6
6	-	10.68 (bs, 1H)	4, 5, 7, 12	H5
7	130.5 (s)	-	-	-
8	111.8 (d)	7.26 (s, 1H)	7, 9, 10, 12	-
9	115.8 (s)	-	-	-
10	146.2 (s)	-	-	-
11	103.4 (d)	6.98 (s, 1H)	4, 7, 9	-
12	126.8 (s)	-	-	-
NMe	27.3 (q)	1.97 (s, 3H)	2, 14	-
Leucine				
14	171.9 (s)	-	-	-
15	46.8 (d)	4.21 (ddd, 2.9, 4.9, 11.7 Hz, 1H)	-	H16a, H16b, H20
16	37.2 (t)	-0.48 (dd, 11.7, 11.7 Hz, 1H)	-	H15, H16b, H17
		0.95 (m, 1H)	-	H15, H16a, H17
17	23.3 (d)	1.40 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H19, H18
18	19.5 (q)	0.27 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	21.3 (q)	0.41 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	8.42 (d, 4.9 Hz, 1H)	15, 16, 21	H15
leucine				
21	172.9 (s)	-	-	-
22	57.7 (d)	3.77 (dd, 6.8, 7.3 Hz, 1H)	21, 23, 24, 25	H23, H26
23	29.8 (t)	1.88 (m, 2H)	-	H22, H23, H24
24	18.9 (q)	0.84 (d, 7.0 Hz, 3H)	22, 23, 25	H23
25	18.9 (q)	0.93 (d, 7.0 Hz, 3H)	22, 23, 24	H23
26	-	6.74 (d, 6.9 Hz, 1H)	23, 28	H22
lysine				
27	172.2 (s)	-	-	-
28	54.5 (d)	3.84 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	20, 28, 29, 45	H29, H34
29	31.5 (t)	1.54 (m, 2H)	-	H28, H30a, H30b
30	20.2 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H29, H30b, H31
		1.10 (m, 1H)	-	H29, H30a, H31
31	28.2 (t)	1.42 (m, 2H)	-	H30a, H30b, H32a, H32b

32	38.3 (t)	2.85 (m, 1H)	-	H31, H32b, H33
		3.57 (m, 1H)	30, 31	H31, H32a, H33
33	-	7.46 (dd, 1.2, 7.0 Hz, 1H)	35	H32a, H32b
34	-	6.41 (d, 6.8 Hz, 1H)	29, 28, 45	H28
phenylalanine				
35	170.4 (s)	-	-	-
36	54.1 (d)	4.52 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	35	H37a, H37b, H44
37	37.2 (t)	2.72 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	36, 38, 39, 43	H36, H37b
		3.36 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	36, 38, 39, 43	H36, H37a
38	137.9 (s)	-	-	-
39	131.4 (d)	7.01 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 41, 43	H40
40	130.4 (d)	7.37 (d, 7.8 Hz, 1H)	42, 38	H39
41	119.2 (s)	-	-	-
42	130.4 (d)	7.39 (d, 7.8 Hz, 1H)	40, 38	H43
43	131.4 (d)	7.08 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 39, 41	H42
44	-	8.81 (d, 8.8 Hz, 1H)	-	H36
45	157.3 (s)	-	-	-
isoleucine				
46	-	6.26 (d, 8.8 Hz, 1H)	45, 47	H47
47	57.2 (d)	4.04 (dd, 4.9, 8.8, 7.8 Hz, 1H)	45, 48, 49, 51, 52	H48, H46
48	37.2 (d)	1.70 (m, 1H)	-	H47, H49b, H49a
49	25.1 (t)	1.33 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H49a, H48, H50
		1.07 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H49b, H48, H50
50	11.4 (q)	0.83 (t, 6.8 Hz, 3H)	48, 49	H49a, H49b
51	15.8 (q)	0.83 (d, 6.8 Hz, 3H)	47, 48, 49	H48
52	174.5 (s)	-	-	-

^aChemical shifts determined from 2D heteronuclear experiments

EXAMPLE 2

This Example describes the isolation of Compound 11.

5 General Experimental Procedures

Water was Milli-Q filtered, while all other solvents used were Omnisolv. A Hypersil BDS basic C18 5uM, 21.2 mm x 150 mm, column were used for preparative HPLC. NMR spectra were recorded on a Varian Inova 600 or 500 MHz NMR spectrometer. Samples were dissolved in d₆-DMSO and chemical shifts were calculated relative to the solvent peak (DMSO ¹H □ 2.50 and ¹³C 39.5 ppm). Mass spectra were measured on a Fisons VG Platform II, using positive electrospray ionisation mode. The elution solvent was a mixture acetonitrile/water 50% at 0.1 ml/min.

Animal Material

Six sponge samples of *Candidaspongia flabellata* were collected by SCUBA diving at Outer Gneering, Sunshine Coast, Old Reef, Fairfax Is and Chauvel Reef, Queensland, Australia and voucher samples (G315106, G314580, G314025, G315402, G318260, G317513) were lodged at the Queensland Museum, Brisbane, Australia.

5 Extraction and Isolation

The freeze-dried sponge materials (529 g) were ground and exhaustively extracted with methanol to afford six methanol extracts. The methanol crude extracts underwent a series of partitions: MeOH/*n*-hexane, H₂O:MeOH(4:1)/DCM, H₂O:MeOH(4:1)/EtOAc. Bioactivity was spread in the H₂O:MeOH(4:1) and EtOAc layers. The H₂O:MeOH(4:1) and EtOAc layers were combined for all six biota and then partitioned with H₂O/butanol. The activity was in the butanol layer (900 mg), which then underwent countercurrent chromatography {H₂O/MeOH/EtOAc (4:1:5)}, upper layer mobile phase. The very early eluting fractions, 13-24, were combined (325 mg) and partitioned *n*-hexane:EtOAc:MeOH:H₂O (1:1:1:1). The bioactive aqueous layer (150 mg) was then chromatographed further by counter current chromatography {(CHCl₃:MeOH:H₂O (7:13:8))}, lower layer mobile phase. The early eluting active fractions, 25-32, were combined to give 85 mg of material. This underwent a final purification step by HPLC (Hypersil BDS C18) using a 30 min H₂O/MeCN gradient from H₂O (containing 1% TFA) to MeCN (containing 1% TFA). This yielded 0.4 mg of Compound 11 eluting after 18.2 mins.

20 Compound 11: MS: (positive ESI) [M+H]⁺ *m/z* 1003.0 (100), 1004.4 (72), 1005.4 (75), 1006.3 (32). ¹H and ¹³C NMR (d₆-DMSO): see Table 1 1.

Compound 11 was also identified as a cyclic peptide after detailed studies, including ¹H, ¹³C, gHSQC, gHMBC, and gCOSY experiments.

Compound 11

41

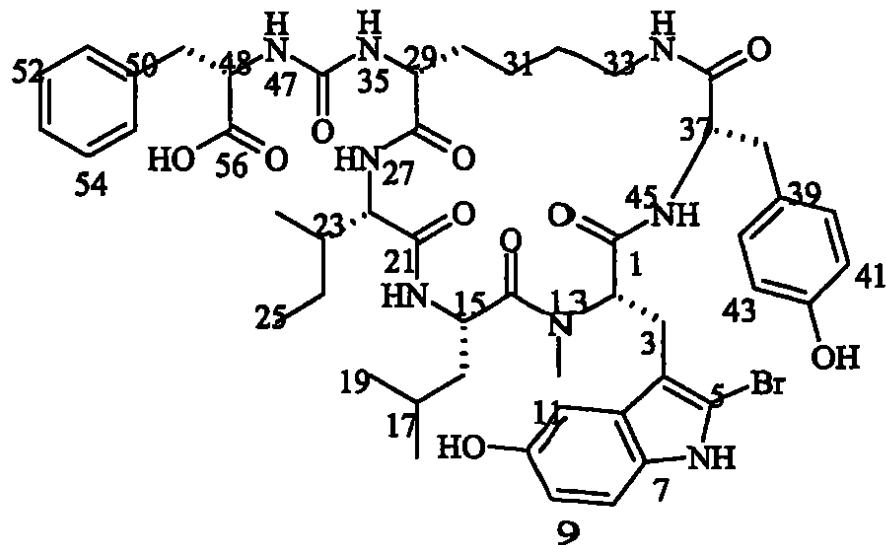


Table 11 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC and COSY
NMR data for Compound 11 in d₆-DMSO

Atom No	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	^{2,3} J _{CH} correlations	COSY
N-Methyl tryptophan				
1	n.o.	-	-	-
2	60.0 (d)	4.70 (bd, 10.8 Hz, 1H)	-	H3a, H3b
3	22.4 (t)	2.71 (dd, 14.5, 10.8 Hz, 1H)	-	H2, H3b
		3.14 (d, 14.5 Hz, 1H)	-	H3a
4	n.o.	-	-	-
5	108.9 (s)	-	-	-
6	-	11.33 (s, 1H)	4, 7, 12	-
7	130.8 (s)	-	-	-
8	111.0 (d)	7.05 (bd, 8.0 Hz, 1H)	12, 10	H9
9	111.8 (d)	6.60 (bd, 8.0 Hz, 1H)	-	H8
10	150.8 (s)	-	-	-
11	101.8 (d)	6.82 (ba, 1H)	7, 10	-
12	128.1 (s)	-	-	-
NMe	28.5 (q)	2.10 (s, 3H)	2	-
Leucine				
14	172.4 (s)	-	-	-
15	46.8 (d)	4.16 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H20
16	36.6 (t)	0.32 (bt, 11.0 Hz, 1H)	15	H16b, H17
		0.96 (m, 1H)	-	H15, H16a
17	22.4 (d)	*1.42 (m, 1H)	-	-
18	19.0 (q)	0.22 (d, 6.6 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17

19	22.1 (q)	0.41 (d, 6.6 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	8.38 (d, 4.8 Hz, 1H)	14	H15
Isoleucine				
21	171.6 (s)	-	-	-
22	55.7 (d)	3.99 (t, 6.8 Hz, 1H)	23, 26	H23, H27
23	35.7 (d)	1.76 (m, 1H)	21	H22, H24a, H26
24	24.7 (t)	1.10 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25
		*1.44 (m, 1H)	-	H24a, H25
25	11.2 (q)	0.85 (t, 7.2 Hz, 3H)	23, 24	H24a, H24b
26	14.2 (q)	0.81 (d, 6.6 Hz, 3H)	22	H23
27	-	6.78 (d, 6.8 Hz, 1H)	-	H22
Lysine				
28	172.4 (s)	-	-	-
29	54.3 (d)	3.85 (ddd, 7.0, 6.5, 5.0 Hz, 1H)	28	H30a, H30b, H35
30	31.0 (t)	1.52 (m, 1H)	-	H29, H31a
		1.60 (m, 1H)	-	H29, H31b
31	20.1 (t)	1.14 (m, 1H)	-	H30a
		1.25 (m, 1H)	-	H30b
32	26.6 (t)	1.38 (m, 1H)	-	H33b
		1.41 (m, 1H)	-	-
33	37.8 (t)	2.85 (m, 1H)	-	H34
		3.52 (m, 1H)	-	H34, H32a
34	-	7.35 (m, 1H)	-	H33a, H33b
35	-	6.48 (d, 7.0 Hz, 1H)	-	H29
Tyrosine				
36	n.o.	-	-	-
37	54.7 (d)	4.50 (ddd, 11.7, 9.0, 4.9 Hz, 1H)	-	H38a, H38b, H45
38	36.5 (t)	2.62 (bt, 13.0 Hz, 1H)	39	H37, H38b
		*3.23 (m, 1H)	39	H37, H38a
39	130.0 (s)	-	-	-
40	128.5 (d)	6.87 (d, 7.5 Hz, 1H)	38, 39, 42	H41
41	114.8 (d)	6.62 (d, 7.5 Hz, 1H)	40, 42, 44	H40
42	156.0 (s)	-	-	-
43	114.8 (d)	6.62 (d, 7.5 Hz, 1H)	40, 42, 44	H44
44	128.5 (d)	6.87 (d, 7.5 Hz, 1H)	38, 39, 42	H43
45	-	8.54 (d, 9.0 Hz, 1H)	-	H37
46	n.o.	-	-	-
Phenylalanine				

47	-	6.26 (d, 8.0 Hz, 1H)	-	H48
48	53.4 (d)	4.36 (ddd, 8.0, 7.5, 5.2 Hz, 1H)	56, 49	H49a, H49b, H47
49	37.2 (t)	2.86 (dd, 13.8, 7.5 Hz, 1H)	56, 55, 51, 50, 48	H48
		2.99 (dd, 13.8, 5.2 Hz, 1H)	56, 55, 51, 50, 48	H48
50	137.5 (s)	-	-	-
51	129.0 (d)	7.16 (d, 7.5 Hz, 1H)	53, 49	H52, H54
52	128.0 (d)	7.27 (t, 7.5 Hz, 1H)	50	H51, H55
53	126.2 (d)	7.20 (t, 7.5 Hz, 1H)	51, 55	-
54	128.0 (d)	7.27 (t, 7.5 Hz, 1H)	50	H51, H55
55	129.0 (d)	7.16 (d, 7.5 Hz, 1H)	53, 49	H52, H54
56	173.8 (s)	-	-	-
OH	-	8.71 (s, 1H)	-	-
OH	-	9.13 (s, 1H)	-	-

*Chemical shift estimated from 2D NMR experiments
n.o. = not observed.

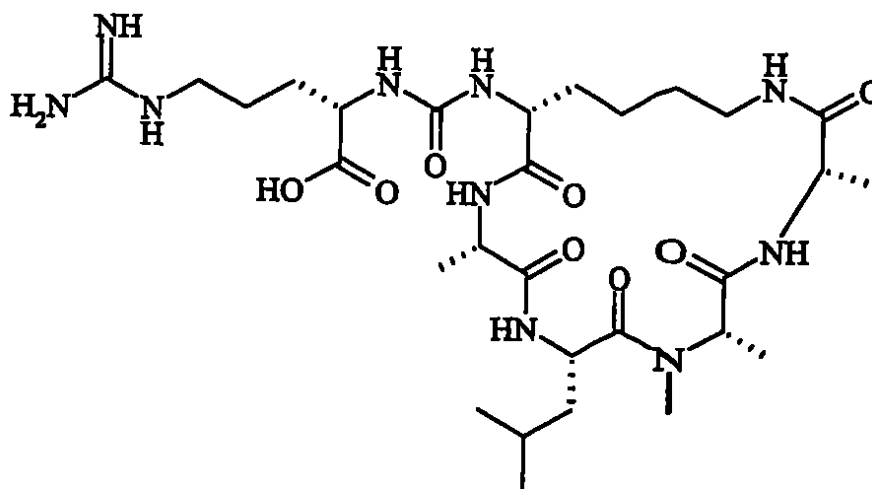
EXAMPLE 3

This Example describes the synthesis of Compound 12.

5 General Experimental Procedures

High resolution mass spectra were recorded on a Micromass LCT mass spectrometer equipped with an electrospray interface (LC-HRMS). ¹H NMR measurements were performed on Varian UNITY plus 400, 500 and 600 spectrometers, operating at ¹H frequencies of 400, 500 and 600 MHz respectively. NMR spectra were recorded in d₆-DMSO with chemical shifts given in ppm with the solvent as internal standard.

Compound 12



Synthesis of Compound 12

26

Compound 12 was prepared according to a literature procedure (Marsh and Bradley, *J. Org. Chem.*, 1997, 62, 6199-6203) with the following modifications: Fmoc-L-Arg- N^{ω}, ω' -(Boc)₂-OH was first coupled to the resin/linker. After removal of the Fmoc group, the free amine was coupled with N^{α} -(4-nitrophenyloxycarbonyl)- N^{ϵ} -(9-fluorenylmethoxycarbonyl)-D-lysine allyl ester. Fmoc peptide synthesis continued on the side chain of the lysine residue using Fmoc-L-Ala followed by Fmoc-L-*N*-MeAla, Fmoc-L-Leu and Fmoc-L-Ala. Allyl ester and Fmoc removal was followed by cyclization and finally cleavage from the resin/linker. Purification of the residue by reversed-phase HPLC (Ace C8 column, linear gradient 5%→95% MeCN in 0.1 M aqueous NH₄OAc) gave Compound 12 (1.8 mg, 1.3%).

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO): δ 9.2 (broad s, 1H), 8.66 (d, 1H), 8.52 (d, 1H), 7.4-8.0 (broad signal, 4H), 7.47 (dd, 1H), 7.10 (d, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.08 (d, 1H), 4.77-4.83 (m, 1H), 4.70-4.77 (m, 1H), 4.23 (qd, 1H), 4.07 (qd, 1H), 3.88-3.98 (m, 1H), 3.65-3.75 (m, 1H), 3.47-3.52 (m, 1H), 3.03 (broad t, 2H), 2.71-2.78 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 1.78-1.84 (m, 1H), 1.68-1.79 (m, 1H), 1.30-1.65 (m, 12H), 1.15-1.23 (m, 2H), 1.18 (two d, 6H), 0.94 (d, 3H), 0.93 (d, 3H), 0.89 (d, 3H), 0.88 (d, 3H).

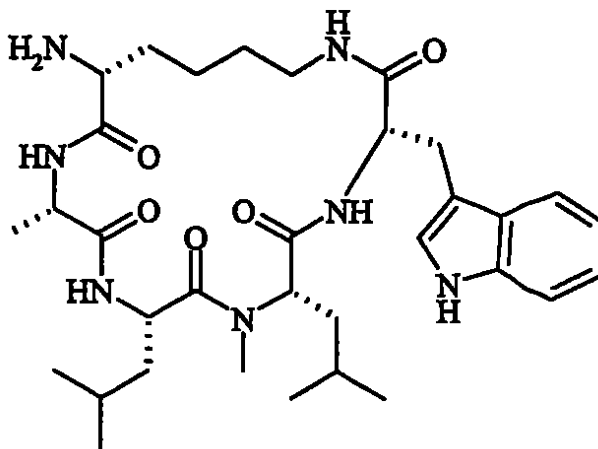
HRMS (ESI) calculated for C₃₂H₅₉N₁₀O₈ 711.4517 (M+H)⁺, found 711.4525.

EXAMPLE 4

This Example describes the synthesis of Compounds 1 and 13 to 16.

Synthesis of Compound 1**a) Synthesis of Intermediate A**

5

Intermediate A

TFA (2 mL) was added to Boc-D-Lys(Fmoc)-OAllyl (2.86 g, 5.6 mmol) and left to stand for 5 min. The TFA was then removed by a stream of dry nitrogen to afford H-D-Lys(Fmoc)-OAllyl which was dried on a high vacuum line for 2 h to remove all traces of TFA. 2-Chlorotrityl resin (1 g, 1.4 mmol) was pre-swelled in DCM (10 mL) for 1 h. The resin was drained and a solution of H-D-Lys(Fmoc)-OAllyl (2.30 g, 5.64 mmol) and DIEA (729 mg, 982 μ L, 5.64 mmol) in DCM (10 mL) was added and the reaction mixture shaken for 1 h. Further DIEA (1.46 g, 1.95 mL, 11.3 mmol) was added to the resin and the reaction mixture shaken for a further 1 h. Methanol (1 mL) was added to end-cap any unreacted resin and the reaction mixture shaken for a further 1 h. The resin was filtered and washed with DMF (2 x 5 mL), DCM (2 x 5 mL) and DMF (2 x 5 mL). The resin was subjected to Fmoc-solid phase peptide synthesis (SPPS) using the following conditions:

- (i) Fmoc deprotection: 20 % piperidine in DMF (2 x 10 mL) for 2 min followed by washing with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL).
- (ii) Coupling conditions: In all couplings the solution of the coupling reagent in DMF is added to the Fmoc-amino acid. This solution is added to the resin followed by DIEA. (a) Fmoc-Trp(Boc)-OH (2.95 g, 5.6 mmol), HBTU (0.5 M solution, 11.2 mL) and DIEA (0.975 mL, 5.6 mmol) 20 min. (b) Fmoc-N-Me-Leu-OH (2.06 g, 5.6 mmol), HBTU (0.5 M solution, 11.2 mL) and DIEA (0.975 mL, 5.6 mmol) 20 min. (c) Fmoc-Leu-OH (1.98 g, 5.6 mmol), HOBt

- (756 mg, 5.6 mmol), HATU (2.13 g, 5.6 mmol) and DIEA (314 μ L, 1.8 mmol) in DMF (10 mL) 3 h. (d) Fmoc-Ala-OH (1.74 g, 5.6 mmol), HBTU (0.5 M solution, 11.2 mL) and DIEA (0.975 mL, 5.6 mmol) 20 min. Following all couplings the resin was filtered and washed with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL). All couplings except for (c) were monitored using the ninhydrin test, coupling (c) was monitored using a bromophenol blue test. All couplings were also monitored by MS by cleaving a small amount of resin (5 mg) with 100 % TFA for 5 min, the filtrate from the resin was then analysed by MS.
- 10 A solution of Pd(PPh₃)₄ (1.62 g, 1.4 mmol) and dimedone (1.96 g, 14 mmol) in THF:DCM (1:1, 50 mL) was sparged with nitrogen gas for 10 min., added to the resin and the mixture shaken for 16 h. The reaction mixture was filtered and washed with DCM (3 x 5 mL), DMF (3 x 5 mL) a solution of 0.5% DIEA and 0.5% diethyldithiocarbamic acid sodium salt in DMF (3 x 5 mL) and DMF (3 x 5 mL). The resin was treated with 20 % piperidine in DMF (2 x 10
- 15 mL) for 2 min. followed by washing with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL), 10% pyridinium hydrochloride in DCM:DMF (1:1, 4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL). A solution of PyBroP (718 mg, 1.54 mmol) and DIEA (1 mL, 5.74 mmol) in DCM:DMF (1:1, 10 mL) was added to the resin and the mixture shaken for 3 h after which a ninhydrin test was negative. The cyclic peptide was cleaved from the resin by treatment with 50% TFA in DCM (20 mL)
- 20 for 1 h. The resin was filtered, washed with TFA (2 x 5 mL) and DCM (2 x 5 mL), concentrated to dryness, re-dissolved in MeCN:H₂O (0.1% TFA) and lyophilised to afford crude Intermediate A (435 mg, 50% based on the 2-chlorotrityl resin). Purification by RPHPLC (95:5 H₂O (1% TFA):MeCN (1% TFA) to 2:3 H₂O (1% TFA):MeCN (1% TFA)) over 60 min afforded Intermediate A (0.417 g, 3.6 %).
- 25 b) Allyl-N²-[(9H-fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-N⁵-{imino[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl)amino]methyl}ornithinate
- N²-[(9H-fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-N⁵-{imino[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl)amino]methyl}ornithine (1.0g, 1.54 mmol) was dissolved in DMF (5 mL). Caesium carbonate (377 mg, 1.16 mmol) was added and the reaction mixture stirred
- 30 for 1 h. Allyl bromide (0.913 mL, 10.8 mmol) was then added and stirring was continued for a further 1 h resulting in a milky white solution. Water (25 mL) was added and the reaction mixture acidified with 2M KHSO₄. DCM (50 mL) was added and the phases separated. The

aqueous phase was washed with DCM (2 x 50 mL) and the combined organics washed with brine (50 mL), dried (MgSO₄), filtered and concentrated to dryness to afford allyl-*N*²-[(9H-fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*⁵-{imino[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl)amino]methyl}ornithinate as colourless foam (857 mg, 81%).

- 5 ¹HNMR (CDCl₃, 500 MHz): □ 1.43 (s, 6H), 1.59 (m, 2H), 1.73 (m, 1H), 1.86 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.61 (s, 3H), 2.91 (s, 2H), 3.22 (m, 2H), 4.17 (t, *J* 7 Hz, 1H), 4.32 (m, 1H), 4.37 (m, 1H), 4.59 (br d, *J* 4.5 Hz, 2H), 5.21 (d, *J* 10.5 Hz, 1H), 5.30 (d, *J* 17 Hz, 1H), 5.83 (m, 1H), 5.88 (m, 1H), 6.26 (br s, 1H), 6.35 (br s, 2H), 7.26 (t, *J* 7.5 Hz, 2H), 7.37 (t, *J* 7.5 Hz, 2H), 7.57 (m, 2H), 7.74 (d, *J* 7.5 Hz, 2H).
- 10 ¹³CNMR (CDCl₃, 125 MHz): □ 12.68, 18.22, 19.54, 25.69, 28.78, 29.93, 40.96, 43.43, 47.36, 53.72, 54.10, 66.23, 67.39, 86.63, 117.78, 119.12, 120.19, 124.93, 125.40, 127.34, 127.96, 131.79, 132.47, 133.17, 138.54, 141.49, 143.97, 144.08, 156.63, 159.03, 171.42). MS: (positive ESI) [M+H]⁺ *m/z* 689.

c) Allyl-*N*⁵-[[4-ethyl-2,2,6,7-tetramethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-

- 15 yl)amino](imino)methyl]-*N*²-[(4-nitrophenoxy)carbonyl]ornithinate

Allyl-*N*²-[(9H-fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl]-*N*⁵-{imino[(2,2,4,6,7-pentamethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl)amino]methyl}ornithinate (800 mg, 1.16 mmol) was dissolved in DMF (4 mL). Piperidine (1 mL) was added, and the reaction mixture was stirred at room temperature for 30 min and then concentrated. The resulting residue was dissolved in DCM (9 mL) and added to a suspension of 4-nitrophenylchloroformate (370 mg, 1.85 mmol) and pyridine (750 μL, 9.3 μmol) in DCM (6 mL) with cooling in an ice-salt bath. After stirring for 2.5 h, 1M KHSO₄ (20 mL) was added, the organic layer separated and the aqueous phase extracted with DCM (4 x 20 mL). The combined organic extracts were dried (MgSO₄), filtered, concentrated and the resulting residue purified by flash chromatography on silica gel (100% Hexane to 7:3 EtOAc:hexane) to afford allyl-*N*⁵-[[4-ethyl-2,2,6,7-tetramethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl)amino](imino)methyl]-*N*²-[(4-nitrophenoxy)carbonyl]ornithinate (138 mg, 18 %).

- ¹HNMR (CDCl₃, 500 MHz): □ 1.42 (s, 6H), 1.62 (m, 2H), 1.79 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.55 (s, 3H), 2.90 (s, 2H), 3.20 (m, 2H), 4.30 (m, 1H), 4.60 (br d, *J* 4.5 Hz, 2H), 5.22 (d, *J* 10.5 Hz, 1H), 5.29 (d, *J* 17 Hz, 1H), 5.86 (m, 1H), 6.25 (br s, 1H), 6.33 (br s, 1H), 6.50 (br d, *J* 6.5 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* 7.5 Hz, 1H), 7.25 (d, *J* 8 Hz, 2H), 8.05 (d, *J* 7.5 Hz, 1H), 8.15 (d, *J* 8 Hz, 2H).

¹³CNMR (CDCl₃, 125 MHz): □ 12.63, 18.16, 19.45, 25.74, 28.76, 29.44, 40.8, 43.41, 54.41, 66.39, 86.71, 115.99, 117.78, 119.21, 122.22, 124.97, 125.23, 126.22, 131.66, 132.40, 133.02, 138.43, 140.75, 144.97, 153.45, 156.06, 156.67, 159.04, 163.07, 163.80, 171.6.

MS: (positive ESI) $[M+H]^+$ m/z 632.

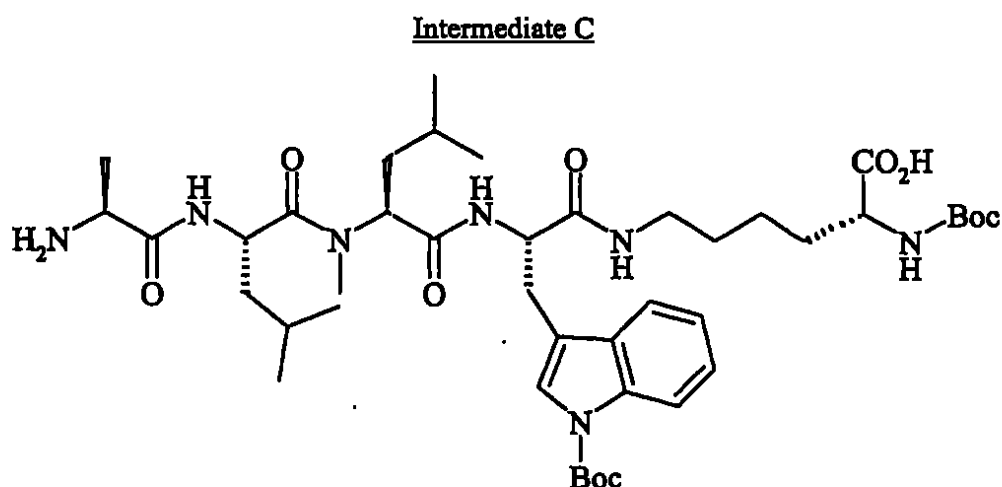
5 d) Compound 1

Intermediate A (49.9 mg, 0.08 mmol) was dissolved in DMF (8 mL). Allyl-*N*⁵-[[[(4-ethyl-2,2,6,7-tetramethyl-2,3-dihydro-1-benzofuran-5-yl)amino](imino)methyl]-*N*²-[(4-nitrophenoxy)carbonyl]ornithinate (60.6 mg, 0.096 mmol) was added, followed by DIEA (17 μ L, 0.096 mmol) and the reaction mixture stirred at room temperature for 16 h. The reaction mixture was concentrated to give the crude urea. A solution of palladium (tetrakis)triphenylphosphine (8 mg, 0.0072 mmol) and dimedone (25 mg, 0.18 mmol) in THF:DCM (1:1, 5 mL) was sparged with dry nitrogen and then added via canula to the urea and stirred at room temperature overnight to afford the crude carboxylic acid. The carboxylic acid was dissolved in DCM (1 mL), and *p*-Cresol (340 μ L) and TFA (250 μ L) were added and the reaction mixture stirred at room temperature for 20 h to afford crude Compound 1. The reaction mixture was purified by reverse phase HPLC (YMC basic semi prep column, linear gradient 65% Water (1% TFA) 35% MeCN (1% TFA) $\rightarrow$ 100% MeCN (1% TFA)) to afford Compound 1 (11.3 mg, 17%). NMR and MS data were found to be identical with an authentic sample.

20 Alternative synthesis of Compound 1

The Intermediate of formula A was also prepared by the following route.

a) Synthesis of Intermediate C



2-Chlorotrityl resin (300 mg, 0.42 mmol) was pre-swelled in DCM (2 mL) for 1 h. The resin was drained and a solution of Boc-D-Lysine(Fmoc)-OH (394 mg, 0.84 mmol) and DIEA (0.586 mL, 3.36 mmol) in DCM (2 mL) was added and the reaction mixture shaken for 1 h.

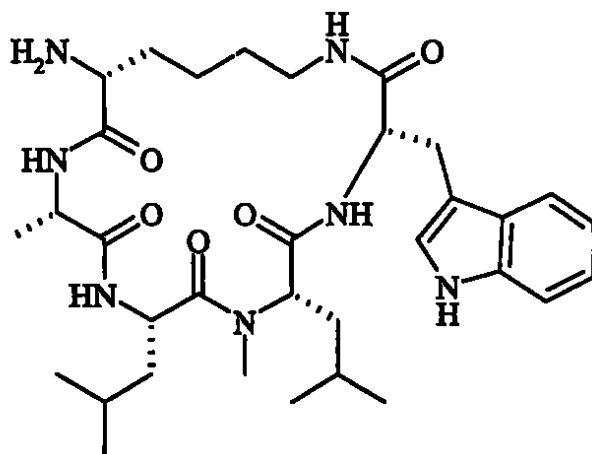
5 A further aliquot of DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) was then added and the resin shaken for another 1 hr. Methanol (1 mL) was added to end-cap any unreacted resin and the reaction mixture shaken for a further 1 h. The resin was filtered and washed with DMF (2 x 5 mL), DCM (2 x 5 mL) and DMF (2 x 5 mL). The resin was then subjected to Fmoc-solid phase peptide synthesis (SPPS) using the following conditions:

- 10 (iii) Fmoc deprotection: 20 % piperidine in DMF (4 mL) for 20 min followed by washing with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL).
- (iv) Coupling conditions: In all couplings a solution of the coupling reagent is added to the Fmoc-amino acid. This solution is added to the resin followed by DIEA. (a) Fmoc-Trp(Boc)-OH (0.885 g, 1.68 mmol), HBTU (0.5 M solution, 3.36 mL) and DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 1 h. (b) Fmoc-N-Me-Leu-OH
- 15 (0.617 g, 1.68 mmol), HBTU (0.5 M solution, 3.36 mL) and DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 1 h. (c) Fmoc-Leu-OH (0.594 g, 1.68 mmol), HATU (0.5M, 0.639 g, 1.68 mmol in 3.36 mL DMF) and DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 2 h. (d) Fmoc-Ala-OH (0.523 g, 1.68 mmol), HBTU (0.5 M solution, 3.36 mL) and
- 20 DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 1h. Following all couplings the resin was filtered and washed with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL). All couplings except for (c) were monitored using the ninhydrin test, coupling (c) was monitored using a bromophenol blue test.

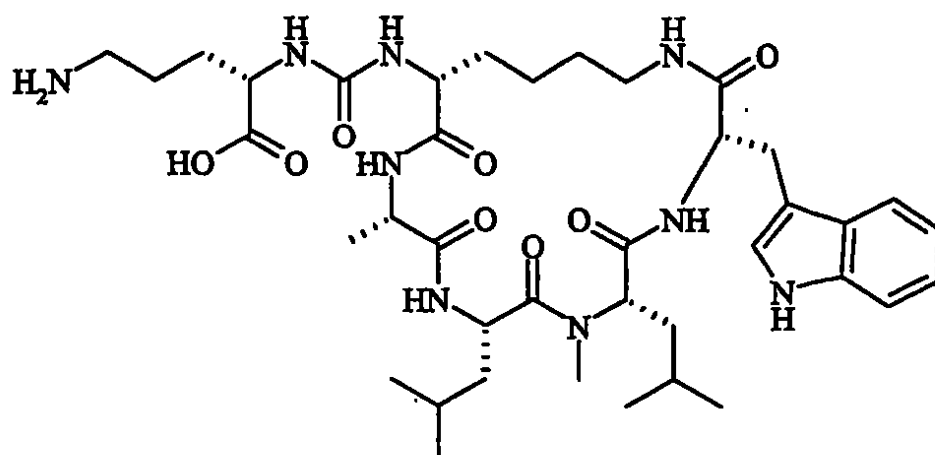
Following Fmoc deprotection and thorough washing with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL), the linear peptide was cleaved from resin with 2% TFA in DCM (150 mL) by rapid flow-wash into 250 mL of water. The DCM was removed *in vacuo* and the resulting solution frozen and freeze dried. The resulting gum was resuspended in 1:1 MeCN:H₂O (100 mL), frozen and freeze-dried to afford crude Intermediate C (265 mg, 0.276 mmol, 65.9% based on the 2-chlorotrityl resin).

30 b) Synthesis of Intermediate A

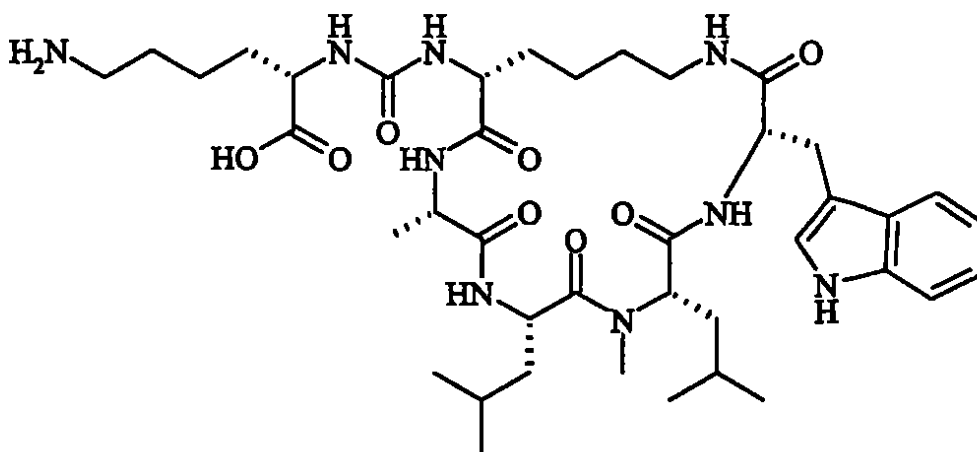
Intermediate A



Crude Intermediate C (0.401 g, 0.419 mmol) and DIEA (0.438 mL, 1.26 mmol) in DMF (208 mL) were added dropwise with stirring to a solution of PyBOP (1.09 g, 2.10 mmol) and DIEA (0.146 mL, 0.838 mmol) in DMF (208 mL). The resulting solution was stirred at room
5 temperature for 18 h then concentrated to dryness and partitioned between EtOAc (100 mL) and water (100 mL). The organic phase was washed several times with water (3 x 100 mL), dried (MgSO₄), filtered and concentrated to dryness. The crude product was treated with a solution of 90:9:1 (TFA:TIS_[b1]:DCM) for 2 h, concentrated to dryness and purified using reverse phase HPLC (95:5 H₂O (1%TFA):MeCN (1%TFA) to 3:2 H₂O (1%TFA):MeCN
10 (1%TFA) over 60 min to afford Intermediate A (0.167 g, 0.226 mmol, 53.9%).

Compound 13Synthesis of Compound 13

- 5 Compound 13 was synthesised using a procedure similar to the procedure for Compound 1, starting from Intermediate A and N^2 -[(benzyloxy)carbonyl]- N^5 -(*tert*-butoxycarbonyl)ornithine. HRMS $C_{39}H_{61}N_9O_8$ 822.4280 ($M+H$)⁺, found 822.4262.

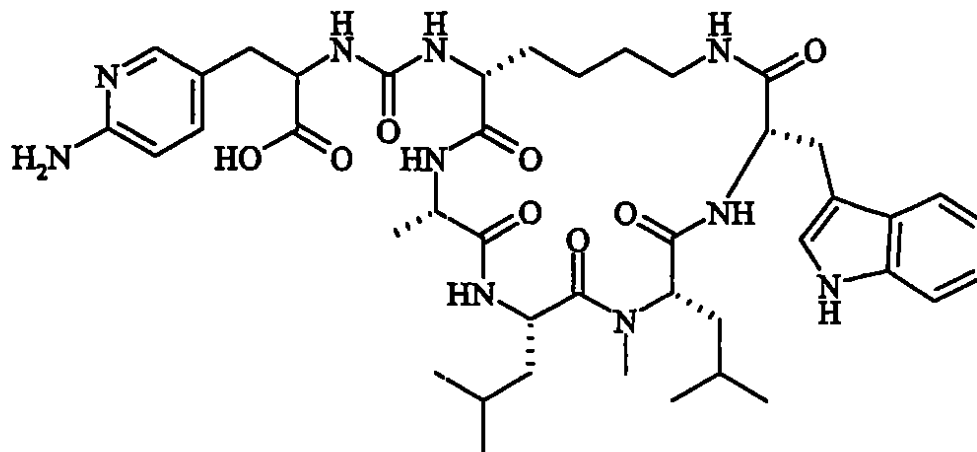
Compound 1410 Synthesis of Compound 14

Compound 14 was synthesised using a procedure similar to the procedure for Compound 1, starting from Intermediate A and *tert*-butyl N^6 -(*tert*-butoxycarbonyl)-L-lysinate.

- ¹H NMR (500 MHz, CD₃OD): □ 8.98 (d, 1H), 8.71 (d, 1H), 7.95 (dd, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.08 (t, 1H), 7.01 (t, 1H), 6.78 (s, 1H), 5.00-4.88 (m, 2H), 4.78-4.70 (m, 1H), 4.36-4.23 (m, 2H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.88-3.77 (m, 1H), 3.55 (dd, 1H), 3.04-2.86 (m, 4H), 2.03-1.88 (m, 3H), 1.85 (s, 3H), 1.84-1.66 (m, 6H), 1.66-1.57 (m, 3H), 1.52 (d, 3H),

1.56-1.44 (m, 3H), 1.42-1.30 (m, 3H), 1.04 (two d, 6H), 0.95 (two d, 6H). HRMS (ESI) calculated for $C_{40}H_{64}N_9O_8$ 798.4878 ($M+H$)⁺, found 798.4858.

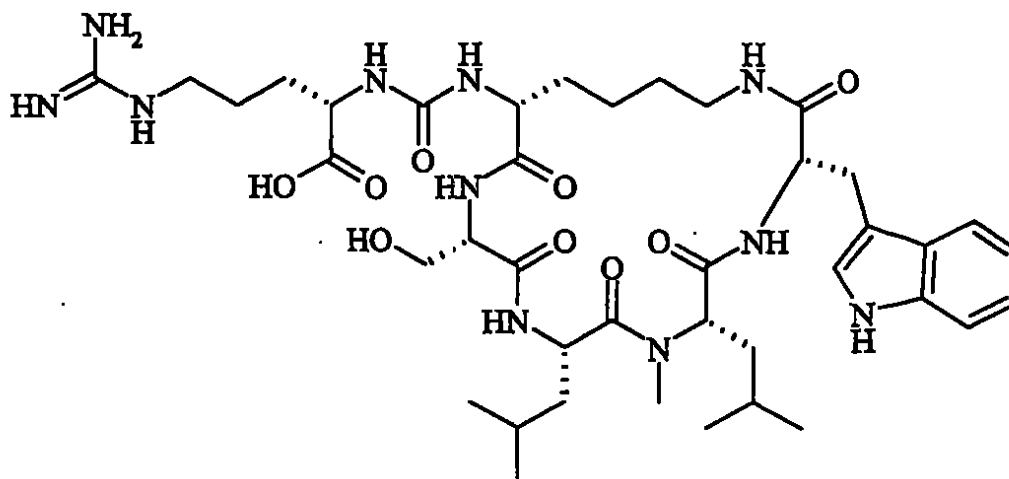
Compound 15



5 Synthesis of Compound 15

Compound 15 was synthesised using a procedure similar to the procedure for Compound 1, starting from Intermediate A and 3-{6-[(*tert*-butoxycarbonyl)amino]pyridin-3-yl}alanine (WO 01/02364). HRMS $C_{42}H_{61}N_{10}O_8$ 833.4674 ($M+H$)⁺, found 833.4678.

Compound 16



10

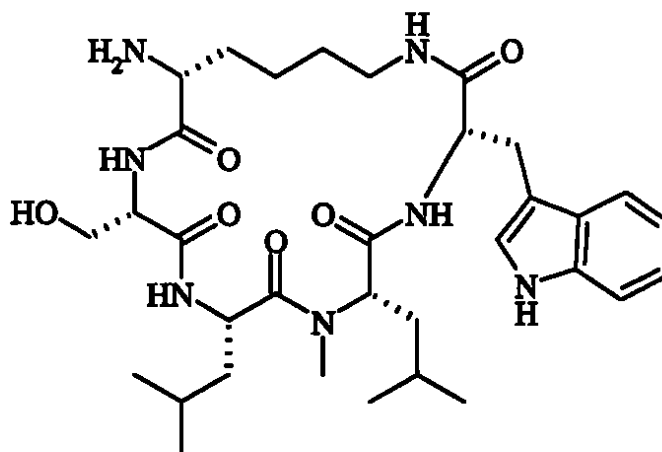
Synthesis of Compound 16

a) Synthesis of Intermediate B

Intermediate B was synthesised using a procedure similar to the procedure for Intermediate A.

15

Intermediate B



b) Synthesis of Compound 16

Compound 16 was synthesised according to the procedure for Compound 1, starting from Intermediate B.

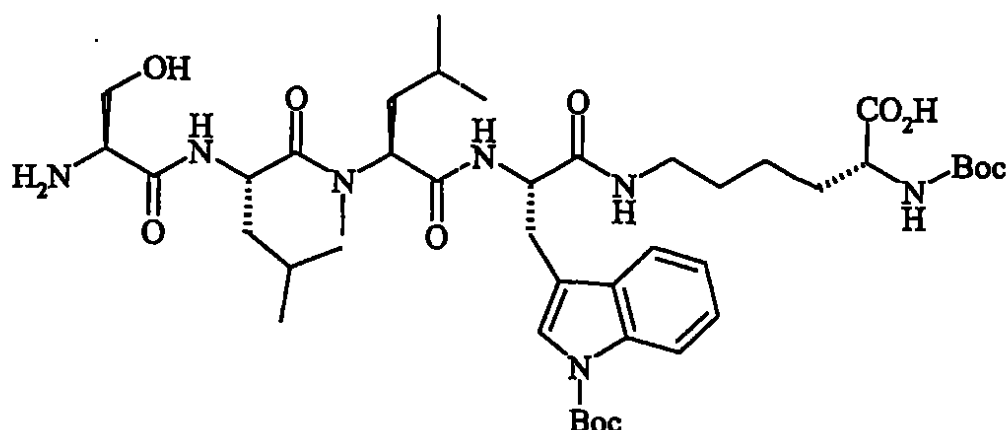
- 5 ^1H NMR (500 MHz, d_6 -DMSO): δ 12.70 (broad s, 1H), 10.83 (s, 1H), 8.86 (d, 1H), 8.47 (d, 1H), 7.70-7.79 (m, 3H), 7.57 (t, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.45 (dd, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.28 (d, 1H), 7.02 (dd, 1H), 6.96 (dd, 1H), 6.81 (broad s, 1H), 6.47 (d, 1H), 6.46 (d, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.74-4.75 (ddd, 1H), 4.43 (ddd, 1H), 4.22-4.24 (m, 1H), 4.13 (ddd, 1H), 4.02 (ddd, 1H), 3.78 (dd, 1H), 3.71 (dd, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.11 (dt, 2H), 2.86-2.92 (m, 1H), 2.78-10 2.80 (m, 1H), 1.83 (s, 3H), 1.79-1.83 (m, 1H), 1.52-1.56 (m, 1H), 1.57-1.60 (m, 1H), 1.60-1.64 (m, 3H), 1.69-1.70 (m, 1H), 1.42-1.48 (m, 5H), 1.33-1.36 (m, 1H), 1.22-1.25 (m, 2H), 1.18-1.20 (m, 1H), 0.95 (d, 3H), 0.91 (d, 3H), 0.89 (d, 3H), 0.85 (d, 3H). HRMS $\text{C}_{40}\text{H}_{64}\text{N}_{11}\text{O}_9$ 842.4888 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$, found 842.4885.

Alternative synthesis of Compound 16

- 15 The Intermediate of formula B was also prepared by the following route.

Synthesis of Intermediate D:^[72]

Intermediate D



2-Chlorotrityl resin (1 g, 1.4 mmol) was pre-swelled in DCM (5 mL) for 1 h. The resin was drained and a solution of Boc-D-Lysine(Fmoc)-OH (1.31 g, 2.8 mmol) and DIEA (1.45 g, 1.98 mL, 11.2 mmol) in DCM (4 mL) was added and the reaction mixture shaken for 2 h.

5 Methanol (1 mL) was added to end-cap any unreacted resin and the reaction mixture shaken for a further 1 h. The resin was filtered and washed with DMF (2 x 5 mL), DCM (2 x 5 mL) and DMF (2 x 5 mL). The resin was then subjected to Fmoc-solid phase peptide synthesis (SPPS) using the following conditions:

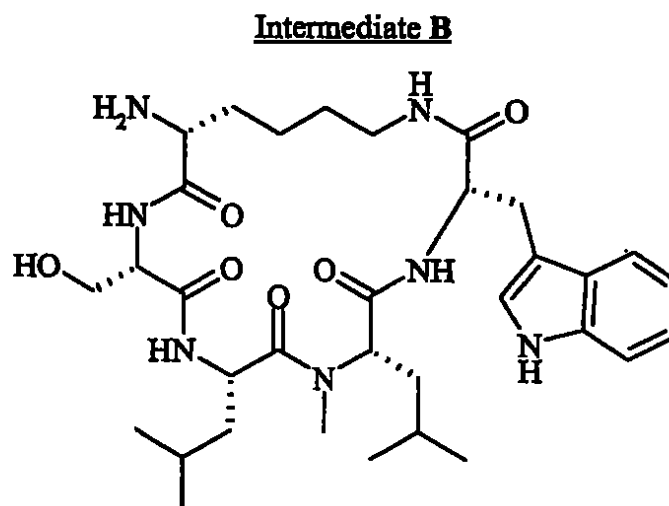
(i) **Fmoc deprotection:** 20 % piperidine in DMF (4 mL) for 20 min followed by washing with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL).

(ii) **Coupling conditions:** In all couplings the solution of the coupling reagent in DMF is added to the Fmoc-amino acid. This solution is added to the resin followed by DIEA. (a) Fmoc-Trp(Boc)-OH (0.912 g, 1.732 mmol), HBTU (0.5 M solution, 3.46 mL) and DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 1 h. (b) Fmoc-N-Me-Leu-OH (0.637 g, 1.732 mmol), HBTU (0.5 M solution, 3.46 mL) and DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 1 h. (c) Fmoc-Leu-OH (0.612 g, 1.732 mmol), HATU (0.5 M, 0.658 g, 1.732 mmol in 3.5 mL DMF) and DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 2 h. (d) Fmoc-Ser(tBu)-OH (0.664 g, 1.732 mmol), HBTU (0.5 M solution, 3.46 mL) and DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 1 h. Following all couplings the resin was filtered and washed with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL). All couplings except for (c) were monitored using the ninhydrin test, coupling (c) was monitored using a bromophenol blue test.

Following Fmoc deprotection and thorough washing with DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) and DMF (4 x 5 mL), the linear peptide was cleaved from resin with 2% TFA in DCM (400

mL) by rapid flow-wash into 500 mL of water. The DCM was removed *in vacuo* and the resulting solution frozen and freeze dried. The resulting gum was resuspended in 1 : 1 MeCN:H₂O (100 mL), frozen and freeze-dried to afford a crude Intermediate D (994.6 mg, 0.88 mmol, 63% based on the 2-chlorotrityl resin).

5 Synthesis of Intermediate B:



Crude Intermediate D (905 mg, 0.88 mmol) and DIEA (0.304 mL, 1.74 mmol) were dissolved in DMF (440 mL) and added dropwise with stirring to a solution of PyBOP (2.13 g, 4.1

- 10 mmol) and DIEA (0.918 mL, 5.3 mmol) in DMF (440 mL). Once addition was complete the resulting solution was stirred at room temperature for 20 h then concentrated to dryness to afford an orange gum, which was purified using Sephadex LH-20 (MeOH) to give the protected cyclic peptide (551 mg, 70%). The protected crude cyclic peptide was then treated with a solution of 95:2.5:2.5 (TFA:TIS:DCM) for 20 h. The reaction mixture was
- 15 concentrated to dryness and purified using reverse phase HPLC (95:5 H₂O (1%TFA):MeCN (1%TFA) to 3:2 H₂O (1%TFA):MeCN (1%TFA) over 60 min to afford Intermediate B (214 mg, 32% from Intermediate D).

20

EXAMPLE 5

The activities of certain Examples in the assay described in: Dirk Hendriks, Simon Scharpé and Marc van Sande, *Clinical Chemistry*, 31, 1936-1939 (1985), using a substrate concentration of 4 mM, are presented in Table I below.

TABLE I

Compound No.	IC ₅₀
2	0.1 μ M
8	2.5 μ M
12	0.2 μ M

Abbreviations

EtOAc = ethyl acetate

DCCC = droplet counter current chromatography

MeOH = methanol

Leu = leucine

DMSO = dimethyl sulfoxide

Trp = tryptophan

HPLC = high pressure liquid chromatography

RPHPLC = reverse phase high pressure liquid chromatography

Boc = tert-butoxycarbonyl

Fmoc = (9H-fluoren-9-ylmethoxy)carbonyl

gHMBC = gradient heteronuclear multiple bond correlation

gCOSY = gradient correlated spectroscopy

gHSQC = gradient heteronuclear single quantum coherence

CPC = centrifugal partition chromatography

DIEA = diisopropyl ethyl amine

HATU = *O*-(7-Azabenzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium hexafluorophosphate

HBTU = *O*-Benzotriazol-1-yl-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium hexafluorophosphate

THF = tetrahydrofuran

DMF = *N,N*-dimethylformamide

Lys = lysine

PyBOP=(benzotriazol-1-yloxy)tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate

PyBrOP=bromo-tripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate

TIPS=Triisopropylsilane

TFA = trifluoroacetic acid

DCM = dichloromethane

MeCN = acetonitrile

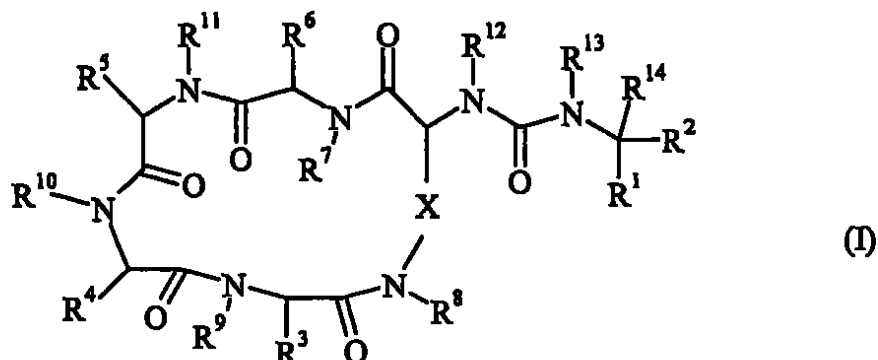
Ala = alanine

Arg = Arginine

TIS = triisopropylsilane

CLAIMS

1. The use of a compound of formula (I):



5 wherein:

X is $(CH_2)_m Y (CH_2)_n$;

m and n are, independently, 1, 2, 3, 4, 5 or 6; provided that $m + n$ is not more than 6;

Y is a bond, O, $S(O)_p$, or S-S;

R^1 is CO_2R^{15} or a carboxylic acid isostere such as $S(O)_2OH$, $S(O)_2NHR^{15}$,

10 $PO(OR^{15})OH$, $PO(OR^{15})NH_2$, $B(OR^{15})_2$, $PO(R^{15})OH$, $PO(R^{15})NH_2$ or tetrazole;

R^2 , R^3 , R^4 , R^5 and R^6 are, independently, hydrogen, C_{1-6} alkyl (optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, SH, $S(O)_3H$, $S(O)_q(C_{1-6}$ alkyl), $OC(O)(C_{1-4}$ alkyl), CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , $COOH$, $CONH_2$, $CONH(C_{1-6}$ alkyl), NH_2 , $CNH(NH_2)$, or

15 $NHCNH(NH_2)$), C_{3-6} cycloalkyl(C_{1-4} alkyl (wherein the cycloalkyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$), heterocyclyl(C_{1-4} alkyl (wherein the heterocyclyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$), phenyl(C_{1-4} alkyl (wherein the phenyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$) or heteroaryl(C_{1-4} alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$);

p and q are, independently, 0, 1 or 2;

R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} and R^{13} are, independently, H or C_{1-4} alkyl;

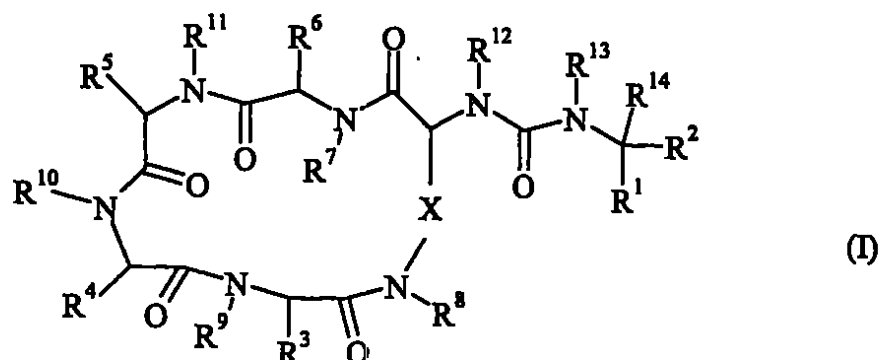
25 R^{14} is H or C_{1-4} alkyl; and,

R^{15} is H or C_{1-4} alkyl;

34

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt; in a method of manufacturing a medicament for the treatment or prophylaxis of a condition wherein inhibition of carboxypeptidase U is beneficial.

5 2. A compound of formula (I):



wherein:

X is (CH₂)₄;

R¹ is CO₂R¹⁵;

- 10 R² is straight-chain C₁₋₆ alkyl substituted at its terminus by NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); C₃₋₆ cycloalkyl substituted by NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); heterocyclyl containing at least one nitrogen atom; non-nitrogen containing heterocyclyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); heteroaryl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); phenyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂);
- 15 heteroaryl(C₁₋₄)alkyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); phenyl(C₁₋₄)alkyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); or C₃₋₆ cycloalkyl(C₁₋₄)alkyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); all of the above rings being optionally further substituted by one or more of: halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy or OCF₃;
- 20 one of R³, R⁴, R⁵ and R⁶ is independently, hydrogen, heteroaryl(C₁₋₄)alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)); and the others are, independently, hydrogen, C₁₋₆ alkyl (optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, SH, S(O)₃H, S(O)₄(C₁₋₆ alkyl), OC(O)(C₁₋₄ alkyl), CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, COOH, CONH₂, CONH(C₁₋₆ alkyl), NH₂, CNH(NH₂), or NHCNH(NH₂)), C₃₋₆
- 25 cycloalkyl(C₁₋₄)alkyl (wherein the cycloalkyl ring is optionally substituted by halogen,

hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)), heterocyclyl(C₁₋₄)alkyl (wherein the heterocyclyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)), phenyl(C₁₋₄)alkyl (wherein the phenyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)) or heteroaryl(C₁₋₄)alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂));

p and q are, independently, 0, 1 or 2;

R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² and R¹³ are, independently, H or C₁₋₄ alkyl;

R¹⁴ is H or C₁₋₄ alkyl; and,

R¹⁵ is H or C₁₋₄ alkyl;

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt.

3. A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt, as claimed in claim 2 wherein:

X is (CH₂)₄;

R¹ is CO₂R¹⁵;

R² is straight-chain C₁₋₆ alkyl substituted at its terminus by NH₂, CNH(NH₂) or

NHCNH(NH₂); C₃₋₆ cycloalkyl substituted by NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂);

heterocyclyl containing at least one nitrogen atom; non-nitrogen containing heterocyclyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); heteroaryl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂);

phenyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂);

heteroaryl(C₁₋₄)alkyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); phenyl(C₁₋₄)alkyl

substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); or C₃₋₆ cycloalkyl(C₁₋₄)alkyl substituted with NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂); all of the above rings being optionally further

substituted by one or more of: halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄ alkoxy or OCF₃;

one of R³, R⁴, R⁵ and R⁶ is independently, hydrogen, heteroaryl(C₁₋₄)alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C₁₋₄ alkyl, CF₃, C₁₋₄

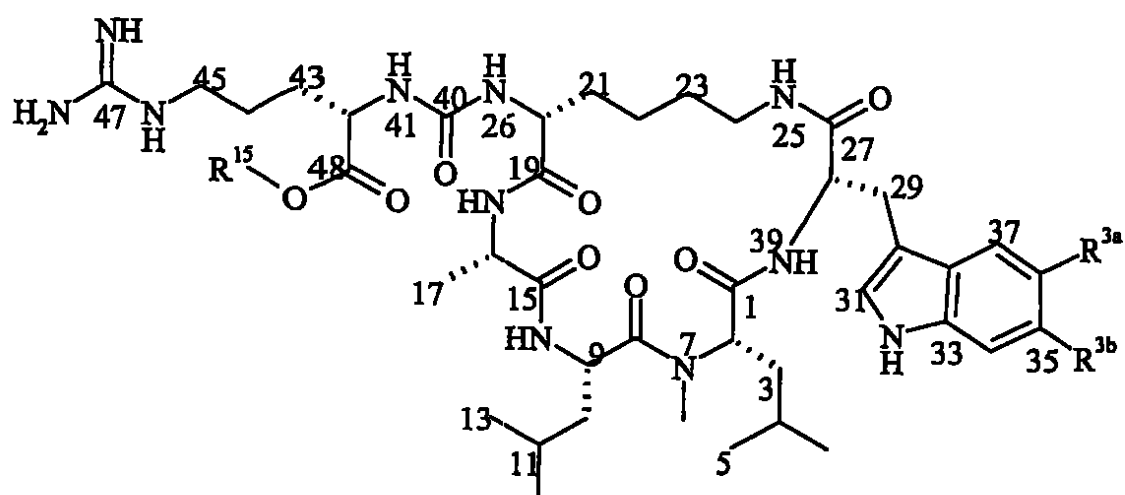
alkoxy, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) or NHCNH(NH₂)); and the others are, independently,

hydrogen, C₁₋₆ alkyl (optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, SH, S(O)₃H,

S(O)₄(C₁₋₆ alkyl), OC(O)(C₁₋₄ alkyl), CF₃, C₁₋₄ alkoxy, OCF₃, COOH, CONH₂, CONH(C₁₋₆

- alkyl), NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$, or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), C_{3-6} cycloalkyl(C_{1-4})alkyl (wherein the cycloalkyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), heterocyclyl(C_{1-4})alkyl (wherein the heterocyclyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), phenyl(C_{1-4})alkyl (wherein the phenyl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$) or heteroaryl(C_{1-4})alkyl (wherein the heteroaryl ring is optionally substituted by halogen, hydroxy, cyano, C_{1-4} alkyl, CF_3 , C_{1-4} alkoxy, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$);
- 10 p and q are, independently, 0, 1 or 2;
 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} and R^{13} are, independently, H or C_{1-4} alkyl;
 R^{14} is H or C_{1-4} alkyl; and,
 R^{15} is H or C_{1-4} alkyl;
or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt.
- 15
4. A compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt as claimed in claim 2 or 3 wherein:
- R^1 is CO_2R^{15} ;
 R^2 is straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ or $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$; C_4 alkyl (such as $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ or $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); or (aminopyridinyl)methyl (for example (6-aminopyridin-3-yl)methyl);
one of R^3 and R^4 is (indol-3-yl) CH_2 optionally substituted by halo or hydroxy; and the other is benzyl (optionally substituted by halo or hydroxy) or C_4 alkyl (such as $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ or $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$);
- 25 or R^3 and R^4 are both methyl;
 R^5 and R^6 are, independently, C_{1-6} alkyl (for example CH_3 , $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ or $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$);
 R^7 , R^8 , R^9 , R^{11} , R^{12} , R^{13} and R^{14} are H;
 R^{10} is C_{1-4} alkyl; and,
- 30 R^{15} is H or C_{1-4} alkyl.
5. A compound as claimed in any one of claims 2 to 4 wherein X is $(\text{CH}_2)_4$.

6. A compound as claimed in any one of claims 2 to 5 wherein R^1 is CO_2R^{15} in which R^{15} is H or C_{1-4} alkyl.
7. A compound as claimed in any one of claims 2 to 6 wherein R^2 is straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $CNH(NH_2)$ or $NHCNH(NH_2)$; C_4 alkyl (such as $CH(CH_3)CH_2CH_3$ or $CH_2CH(CH_3)_2$); or (aminopyridinyl)methyl.
8. A compound as claimed in any one of claims 2 to 4 wherein R^2 is C_{1-6} alkyl ($CH(CH_3)CH_2CH_3$ or $CH_2CH(CH_3)_2$), benzyl, or straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $CNH(NH_2)$, $NHCNH(NH_2)$ or (6-aminopyridin-3-yl)methyl.
9. A compound as claimed in any one of claims 2 to 8 wherein R^2 is straight-chain C_{1-6} alkyl substituted at its terminus by NH_2 , $CNH(NH_2)$, $NHCNH(NH_2)$ or (6-aminopyridin-3-yl)methyl.
10. A compound as claimed in any one of claims 2 to wherein R^3 is CH_2 indolyl (wherein the indolyl is optionally substituted by one or more of: halogen or hydroxy, C_{1-4} alkyl or benzyl (optionally substituted by halogen or hydroxy)).
11. A compound as claimed in any one of claims 2 to 10 wherein R^4 is CH_2 indolyl (wherein the indolyl is optionally substituted by one or more of: halogen or hydroxy, C_{1-6} alkyl ($CH(CH_3)CH_2CH_3$ or $CH_2CH(CH_3)_2$) or benzyl (optionally substituted by halogen or hydroxy).
12. A compound as claimed in any one of claims 2 to 11 wherein R^5 and R^6 are, independently, C_{1-6} alkyl (such as methyl, iso-propyl, $CH(CH_3)CH_2CH_3$ or $CH_2CH(CH_3)_2$).
13. A compound as claimed in any one of claims 2 to 12 wherein R^7 , R^8 , R^9 , R^{11} , R^{12} , R^{13} and R^{14} are all H.
14. A compound as claimed in any one of claims 2 to 4 wherein R^{10} is C_{1-4} alkyl.
15. A compound as claimed in claim 2 which is a compound of the following formula



in which

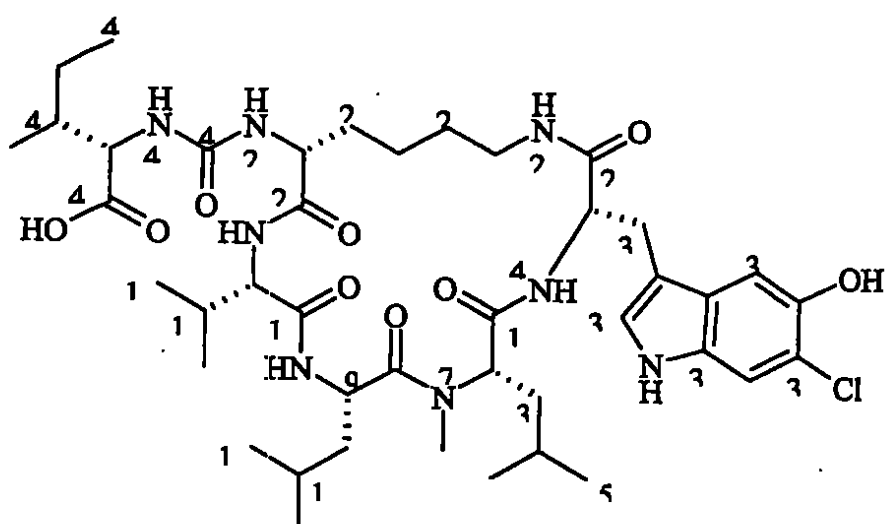
R^{3a} is H, **R^{3b}** is H and **R¹⁵** is H;

R^{3a} is OH, R^{3b} is Cl and R^{15} is H;

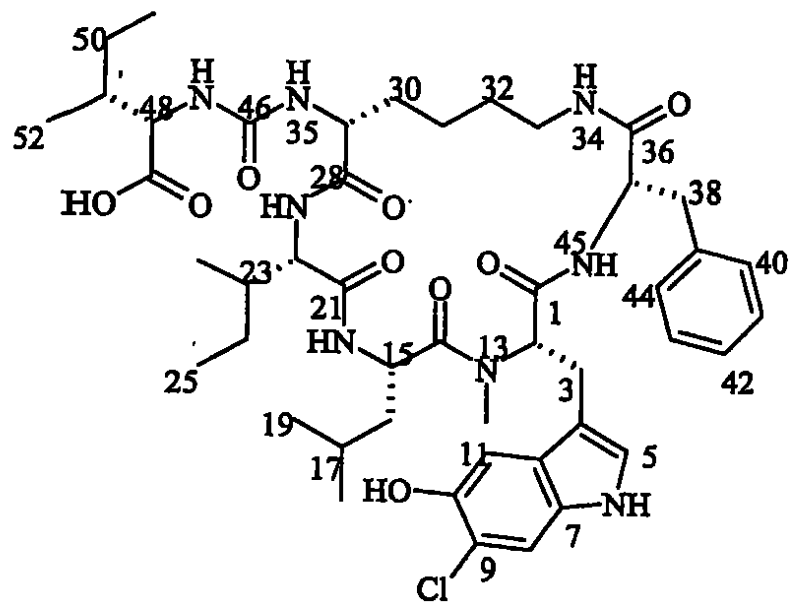
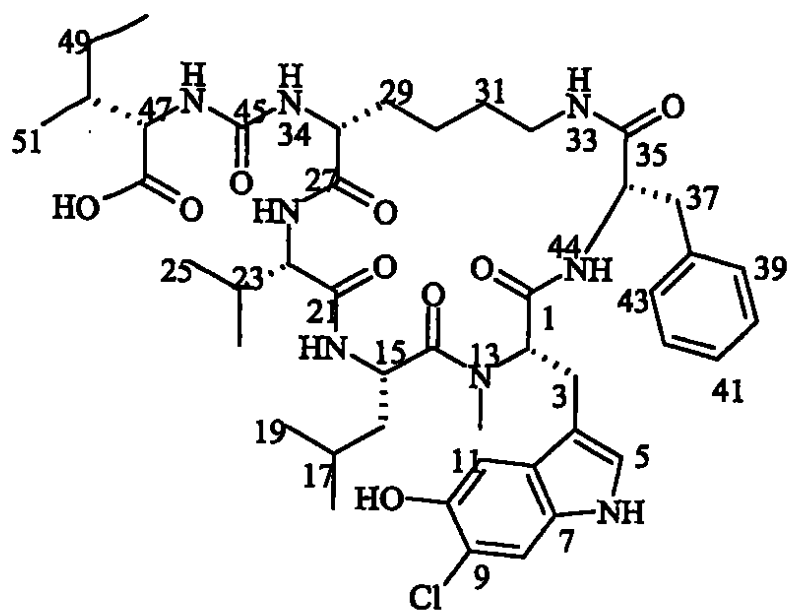
R^{3a} is OH, R^{3b} is Cl and R¹⁵ is CH₃;

R^{3a} is H, R^{3b} is H and R¹⁵ is CH₃;

R^{3a} is H, **R^{3b}** is Cl and **R¹⁵** is H;

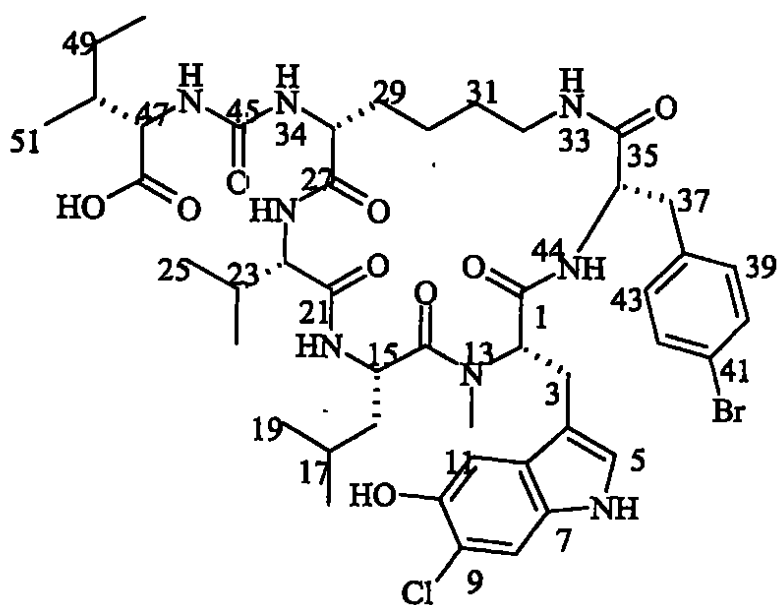
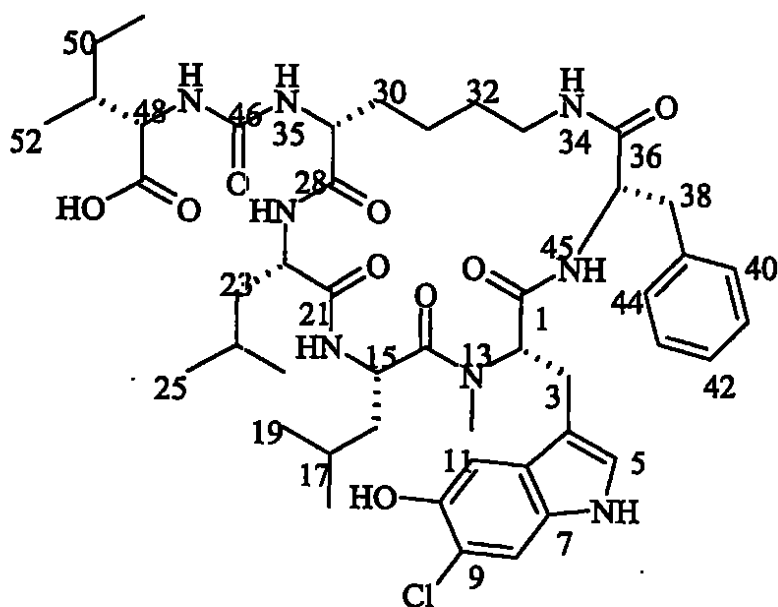


15

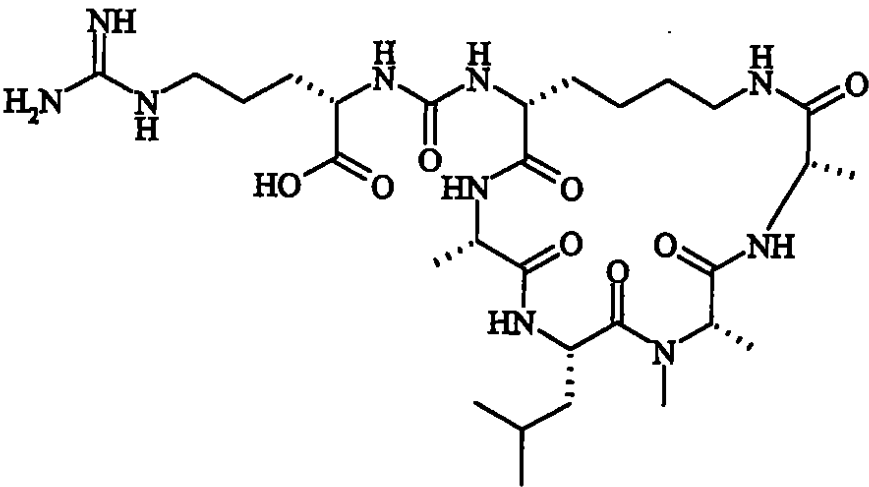
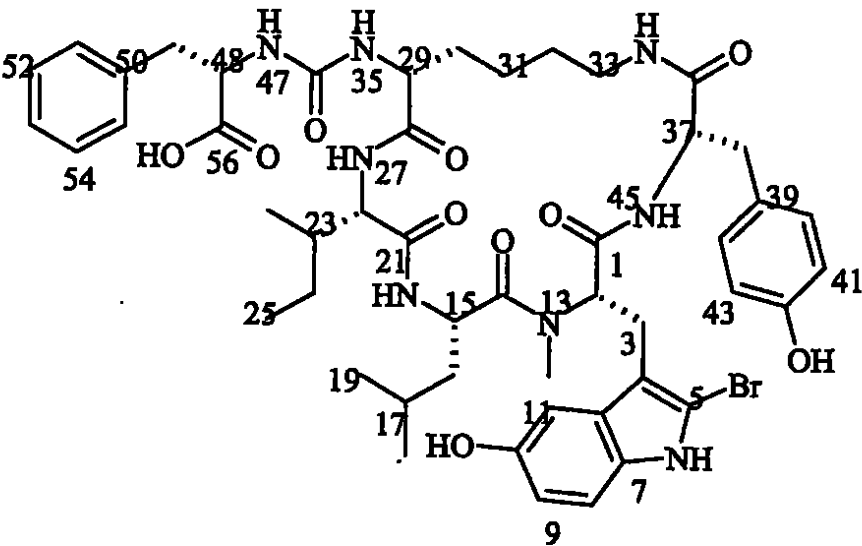


3X

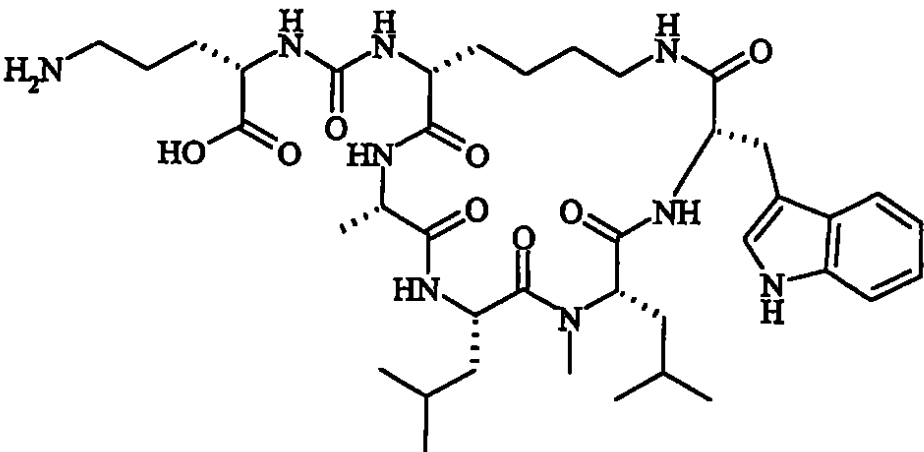
36

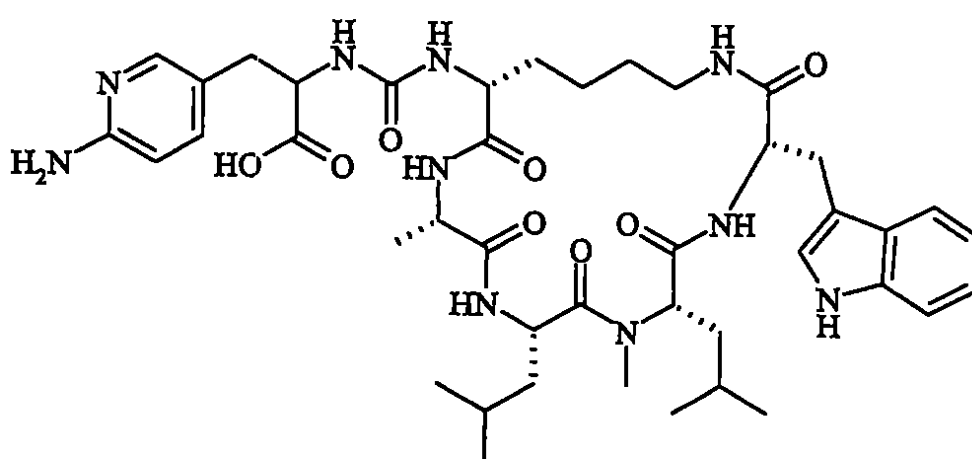
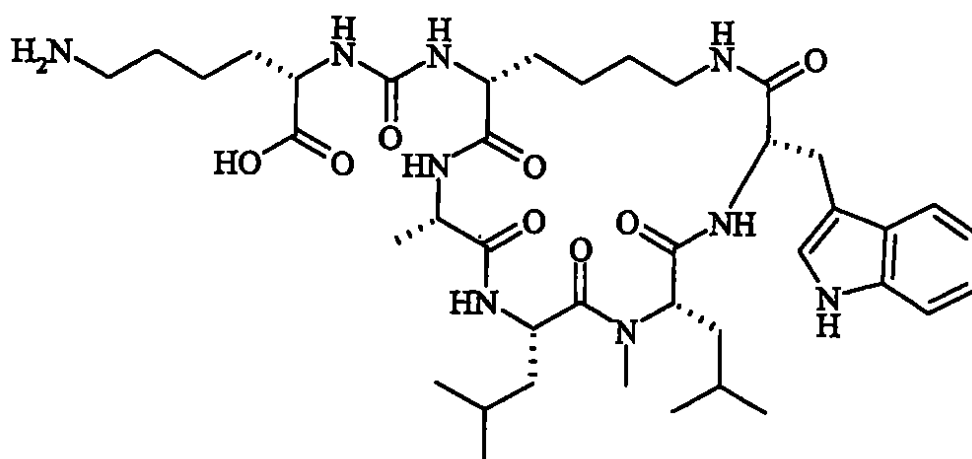


65

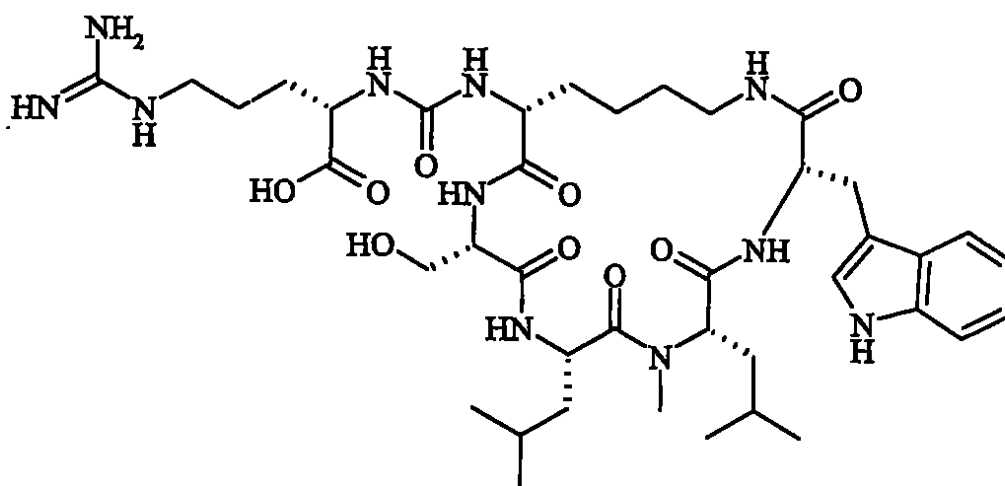


5





5



10

or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of a pharmaceutically acceptable salt thereof.

16. The use of a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt; as claimed in any one of claims 2 to 15 in a method of manufacturing a medicament for the treatment or prophylaxis of a condition wherein inhibition of carboxypeptidase U is beneficial.

5

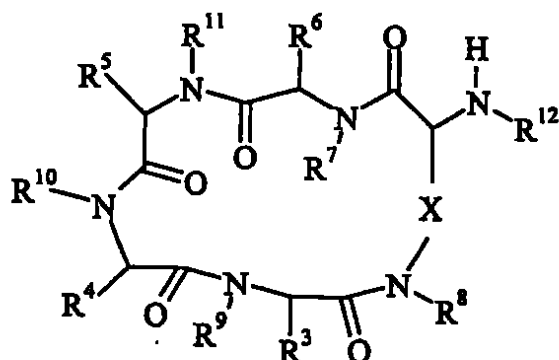
17. The use as claimed in claim 16 for the manufacture of a medicament for the treatment or prophylaxis of thrombosis and/or hypercoagulability in blood and/or tissues; atherosclerosis; fibrotic conditions; inflammatory diseases; or a condition which benefits from maintaining or enhancing bradykinin levels in the body of a mammal (such as man).

10

18. A pharmaceutical formulation containing a compound of formula (I) or a pharmaceutically acceptable salt or solvate thereof, or a solvate of such a salt; as claimed in any one of claims 2 to 15 as active ingredient in combination with a pharmaceutically acceptable adjuvant, diluent or carrier.

15

19. A compound of formula



(VII)

20

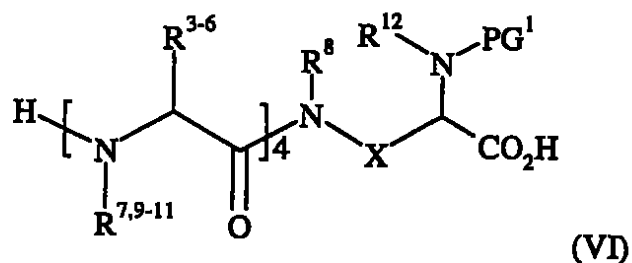
wherein R^3 to R^{12} and X are as defined in any one of claims 1 to 14

20. A process for preparing a compound as claimed in claim 19 which comprises treating a compound of formula VI in which PG1 is a suitable protecting group

68

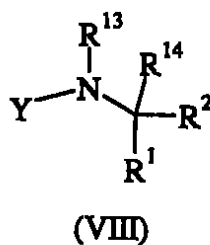
39

with a peptide coupling agent in the presence of a non-nucleophilic base in a polar aprotic solvent and then removing the protecting group.



5

21. A process for preparing a compound of formula I as claimed in any one of claims 2 to 17 which comprises reacting a compound of formula VII as defined in claim 19 with a compound of formula VIII



10

in which Y is an activated ester or NY is an isocyanate group.

15

20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 2004/001568

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: A61K 38/12, C07K 7/50, A61P 7/00, A61P 7/02, A61P 9/10 // A61P35/00

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)

IPC7: A61K, C07K, A61P

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

SE,DK,FI,NO classes as above

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

EPO-INTERNAL, WPI DATA, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ITOU, Yusai et al, "Anabaenopeptins G and H, Potent Carboxypeptidase A Inhibitors from the Cyanobacterium Oscillatoria agardhii (NIES-595)", Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1999, vol. 9, page 1243 - page 1246	1,16,17
X	--	2,3,5-9,13, 14,18,19
X	GRACH-POGREBINSKY, Olga et al, "Protease inhibitors from a Slovenian Lake Bled toxic waterbloom of the cyanobacterium Planktothrix rubescens", Tetrahedron, 2003, vol. 59, page 8329 - page 8336	2,3,5-9,13, 14,18,19
	--	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family 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 application or patent 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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

28 February 2005

Date of mailing of the international search report

03 -03- 2005

Name and mailing address of the ISA/
Swedish Patent Office
Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM
Facsimile No. +46 8 666 02 86

Authorized officer

Eva Johansson/Eö
Telephone No. +46 8 782 25 00

2
INTERNATIONAL SEARCH REPORT

39
International application No.

PCT/SE 2004/001568

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SANO, Tomoharu, et al, "Isolation of New Protein Phosphatase Inhibitors from Two Cyanobacteria Species, <i>Planktothrix</i> spp.", J. Nat. Prod., 2001, vol. 64, page 1052 - page 1055 --	2,3,5-9,13,14,18,19
X	ERHARD, Marcel et al, "Rapid Identification of the New Anabaenopeptin G from <i>Planktothrix agardhii</i> HUB 011 using Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-flight Mass Spectrometry", Rapid Commun. Mass Spectrom., 1999, vol. 13, page 337 - page 343 --	2,3,5-9,13,14
X	STN International, File CAPLUS, CAPLUS accession no. 1997:96876, Document no. 126:86861, Shin. Hee Jae et al: "Anabaenopeptins C and D, two new cyclic peptides from the cyanobacterium <i>Oscillatoria agardhii</i> (NIES-204"; & Journal of Natural Products (1997), 60(2), 139-141 --	2,3,5-9,13,14,18,19
A	STN International, File CAPLUS, CAPLUS accession no. 1999, Document no. 131:334388, Kodani, S. et al: "Five new cyanobacterial peptide from water bloom materials of lake Teganuma (Japan)"; & FEMS Microbiology Letters (1999), 178(2), 343-348 --	1,16,17
X	WO 9620216 A1 (ZENECA LIMITED), 4 July 1996 (04.07.1996) --	19
X	STN International, File CAPLUS, CAPLUS accession no. 1996:430693, Document no. 125:143289, Schmidt, Ulrich et al: "Amino acids and peptides. Part 101. What is the structure of the calmodulin antagonist konbamide from <i>Theonella</i> sp. synthesis of two isomers by direct biomimetic introduction of bromine in hydroxytryptophan-containing cyclic peptides"; & Angewandte Chemie, International Edition in English (1996), 35(12), 1336-1338 --	19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 2004/001568

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MATSOUKAS, John M. et al, "Synthesis and contractile Activities of Cyclic Thrombin Receptor-Derived Peptide Analogues with a Phe-Leu-Arg Motif: Importance of the Phe/Arg Relative Conformation and the Primary Amino Group for Activity", J. Med. Chem., 1996, vol. 39, page 3585 - page 3591 --	19
X	STN International, File CAPLUS, CAPLUS accession no. 1987:407592, Document no. 107:7592, Hisamichi, Kanehiko et al: "Antibacterial peptide. XXIII. Synthesis and antibacterial activity of cyclic acylpentapeptides related to colistin"; & Annual Report of the Tohoku College of Pharmacy (1985), (32), 31-7 --	19
A	WO 0214285 A1 (PFIZER LIMITED), 21 February 2002 (21.02.2002) -- -----	1-21

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

30/01/2005

International application No.
PCT/SE 2004/001568

40

WO	9620216	A1	04/07/1996	AU	705717	B	27/05/1999
				AU	4269896	A	19/07/1996
				BR	9510284	A	06/01/1998
				CA	2204793	A	04/07/1996
				CN	1171118	A	21/01/1998
				CZ	9701984	A	15/10/1997
				EP	0800535	A	15/10/1997
				GB	9426254	D	00/00/0000
				GB	9524630	D	00/00/0000
				HU	77120	A	02/03/1998
				IL	116512	D	00/00/0000
				JP	3248584	B	21/01/2002
				JP	10508315	T	18/08/1998
				NO	972930	A	19/08/1997
				NZ	297530	A	28/02/2000
				PL	320995	A	24/11/1997
				SK	81097	A	10/12/1997
				TR	960616	A	00/00/0000
				US	6034056	A	07/03/2000
				ZA	9510921	A	22/07/1996
				GB	9505905	D	00/00/0000
				GB	9513904	D	00/00/0000

WO	0214285	A1	21/02/2002	AP	200102250	D	00/00/0000
				AU	7660501	A	25/02/2002
				BG	107330	A	30/06/2003
				BR	0113289	A	17/06/2003
				CA	2419633	A	21/02/2002
				CN	1443173	T	17/09/2003
				CZ	20030388	A	17/03/2004
				EP	1311488	A	21/05/2003
				GB	0020346	D	00/00/0000
				HR	20030103	A	30/04/2003
				HU	0303763	A	28/04/2004
				IL	153225	D	00/00/0000
				JP	2004506044	T	26/02/2004
				MX	PA03001425	A	06/06/2003
				NO	20030706	A	15/04/2003
				NZ	522823	A	26/11/2004
				PL	361054	A	20/09/2004
				SK	1732003	A	03/08/2004
				US	20020147229	A	10/10/2002
				ZA	200301230	A	21/04/2004
				GB	0027409	D	00/00/0000
				GB	0029556	D	00/00/0000

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACIÓN INTERNACIONAL EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
6 de Mayo de 2005 (06.05.2005)

(10) Número de Publicación Internacional
PCT
WO 2005/039617 A1

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷: A61K 38/12,
C07K 7/50, A61P 7/00, 7/02, 9/10 // 35/00

Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research
Park, Brisbane, QLD 4111 (AU).

(21) No. Solicitud Internacional: PCT/SE2004/001568

(74) Agentes: ASTRAZENECA; Global Intellectual
Property, S-151 85 Södertälje (SE).

(22) Fecha de Presentación Internacional:
28 de octubre de 2004 (28.10.2004)

(81) Países designados (a menos que se indique lo
contrario para cada clase de protección
disponible): 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.

(25) Idioma de Presentación: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Datos relativos a la Prioridad:
0302853-7 29 de octubre de 2003 (29.10.2003) SE

(71) Solicitante (para todos los países destinatarios con
excepción de US): ASTRAZENECA AB [SE/SE]; S-151
85 Södertälje (SE)

(72) Inventores, e

(75) Inventores/Solicitantes (para US únicamente):
BJÖRQUIST, Petter [SE/SE]; Cellartis AB, Arvid
Wallgrens Backe 20, S-413 46 Göteborg (SE).
BUCHANAN, Malcolm [GB/AU]; Natural Product
Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park,
Brisbane, QLD 4111 (AU). CAMPITELLI, Marc [AU/AU];
Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt
Research Park, Brisbane, QLD 4111 (AU). CARROLL,
Anthony [AU/AU]; Natural Product Discovery, Don
Young Rd, Mt Gravatt Research Park, Brisbane, QLD
4111 (AU). HYDE, Edward [US/AU]; Natural Product
Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt Research Park,
Brisbane, QLD 4111 (AU). NEVE, Juliette [AU/AU];
Natural Product Discovery, Don Young Rd, Mt Gravatt
Research Park, Brisbane, QLD 4111 (AU). POLLA,
Magnus [SE/SE]; AstraZeneca R & D Mölndal, S-431 83
Mölndal (SE). QUINN, Ron [AU/AU]; Natural Product

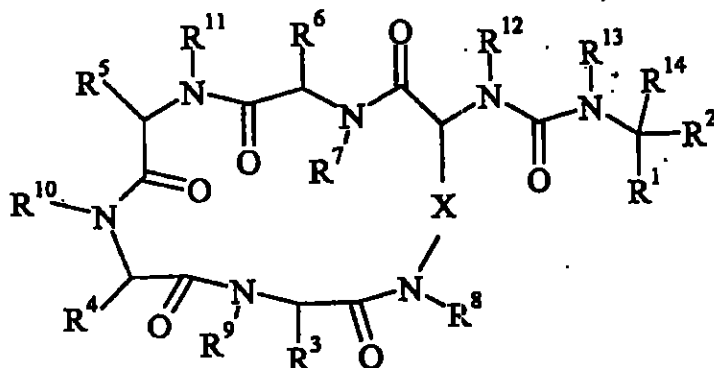
(84) Países designados (a menos que se indique lo
contrario para cada clase de protección
disponible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW,
MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiática
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Europea
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI,
SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

— con informe internacional de búsqueda
— antes del vencimiento del tiempo límite para
modificar las reivindicaciones y para volverse a
publicar en el caso de recibo de modificaciones

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas,
remítase a las "Notas Guía sobre Códigos y
Abreviaturas" que aparece al comienzo de cada edición
regular del Boletín Oficial PCT.

(54) Título: USO DE PÉPTIDOS CÍCLICOS TIPO ANABAENOPEPTINA PARA EL TRATAMIENTO DE UNA ENFERMEDAD EN DONDE ES BENÉFICA LA INHIBICIÓN DE CARBOXIPEPTIDASA U, DERIVADOS NOVEDOSOS DE ANABAENOPEPTINA Y SUS INTERMEDIOS.



(57) Extracto: El uso de un
compuesto de fórmula (I): en un
método de manufacturar un
medicamento para el tratamiento
o profilaxis de una afección en
donde la inhibición de
carboxipeptidasa U es benéfica;
compuestos especificados de
fórmula (I) y composiciones que
comprenden un compuesto de
fórmula (I) y un coadyuvante,
diluyente o excipiente
farmacéuticamente aceptable.

WO 2005/039617 A1

Uso de péptidos cíclicos tipo anabaenopeptina para el tratamiento de una enfermedad en donde es benéfica la inhibición de carboxipeptidasa U, derivados novedosos de anabaenopeptina y sus intermedios.

La presente invención se relaciona con compuestos novedosos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, los cuales inhiben carboxipeptidasas básicas, más específicamente carboxipeptidasa U y, por consiguiente, pueden usarse en la prevención y tratamiento de enfermedades en donde es benéfica la inhibición de carboxipeptidasa U, tales como trombosis e hipercoagulabilidad en sangre y tejido, arteriosclerosis, adhesiones, cicatrización cutánea, cáncer, afecciones fibróticas, enfermedades inflamatorias y aquellas dolencias que se benefician de mantener o incrementar los niveles de bradicinina en el cuerpo. En otros aspectos, la invención se refiere a compuestos de la invención para uso en terapia; a procesos para la preparación de tales compuestos nuevos; a composiciones farmacéuticas que contienen por lo menos un compuesto de la invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, como ingrediente activo; y al uso de los compuestos activos en la manufactura de medicamentos para uso médico, como se indica anteriormente.

La fibrinólisis es el resultado de una serie de reacciones enzimáticas que se traducen en la degradación de fibrina por plasmina. La activación de plasminógeno es el proceso central en la fibrinólisis. La segmentación del plasminógeno para producir plasmina se lleva a cabo por los activadores de plasminógeno, el activador de tejido tipo plasminógeno (t-PA) o el activador de plasminógeno tipo urocinasa (u-PA). La degradación inicial por plasmina de fibrina genera residuos de lisina de terminal carboxi que sirven como sitios de unión de alta afinidad para el plasminógeno. Puesto que el plasminógeno unido a fibrina se activa mucho más fácilmente en plasmina que el plasminógeno libre, este mecanismo provee una regulación de retroalimentación positiva de la fibrinólisis.

Uno de los inhibidores endógenos a la fibrinólisis es la carboxipeptidasa U (CPU). CPU es también conocida como

carboxipeptidasa B del plasma, inhibidor de fibrinólisis activable por trombina activa (TAFIa), carboxipeptidasa R y actividad carboxipeptidasa inducible. CPU se forma durante la coagulación y la fibrinólisis de su proCPU precursora por la acción de enzimas proteolíticas, tales como trombina, complejo trombina-trombomodulina o plasmina. CPU segmenta aminoácidos básicos en el terminal carboxi de fragmentos de fibrina. La pérdida de lisinas de terminal carboxi y, por ello, de sitios de unión de lisina para plasminógeno sirve entonces para inhibir la fibrinólisis. Inhibiendo la pérdida de sitios de unión de lisina para plasminógeno y, por consiguiente, el aumento de la tasa de formación de plasmina, se espera que los inhibidores efectivos de carboxipeptidasa U faciliten la fibrinólisis.

Se ha informado del ácido 2-mercaptometil-3-guanidinoetilpropanoico como inhibidor de carboxipeptidasa N. Más recientemente, se ha demostrado que este compuesto inhibe la CPU, Hendriks, D. *et al.*, Biochimica et Biophysica Acta, 1034 (1990) 86-92.

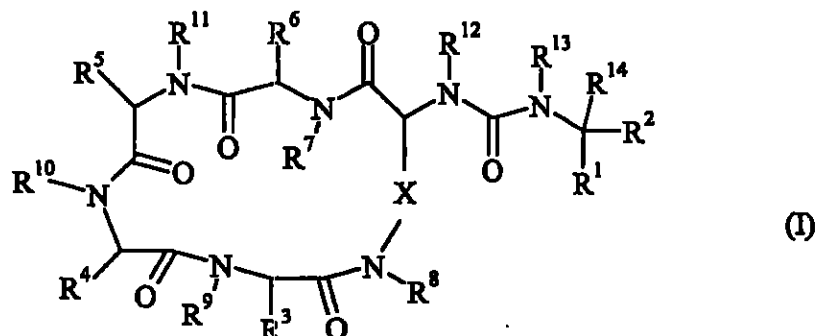
Se ha informado del ácido guanidinoetilmercaptosuccínico como un inhibidor de carboxipeptidasa N. Más recientemente, se ha demostrado que este compuesto inhibe la CPU, Eaton, D.L., *et al.*, The Journal of Biological Chemistry, 266 (1991) 21833-21838.

Inhibidores de la CPU se divulgan en WO 00/66550, WO 00/66557, WO 03/013526 y WO 03/027128 y una formulación farmacéutica que contiene un inhibidor de la CPU, y un inhibidor de trombina se divulga en WO 00/66152. Inhibidores de carboxipeptidasa B del plasma se divulgan en WO01/19836 y WO03/080631. Inhibidores de TAFIa se divulgan en WO 02/14285, WO03/061652 y WO 03/061653.

Péptidos cíclicos de anabaenopeptina se divulgan en: Tetrahedron Letters, Vol. 36, No. 9, pp. 1511-1514 (1995); J. Org. Chem. (1997) 62 6199-6203; Tetrahedron Letters, Vol. 36, No. 33, pp. 5933-5936, (1995); J. Nat. Prod. (1996) 59 570-575; Tetrahedron Letters, Vol. 38, No.31, pp. 5525-5528, (1997); J. Nat. Prod. (1997) 60 139-141; Tetrahedron 54 (1998) 6719-6724; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 9 (1999) 1243-1246; Tetrahedron 56 (2000) 725-733; J. Nat. Prod. (2000) 63 1280-1282;

J. Nat. Prod. (2001) 64 No. 8 1053; Tetrahedron 58 (2002) 6863-6871; y, J. Nat. Prod. (2002) 65 1187-1189.

La síntesis de péptidos cíclicos tipo anabaenopeptina se divulgan en: Journal of Organic Chemistry, Vol. 62, pp. 6199-6203 (1997); y Angewandte Chemie International Edition, Vol. 35, No.12, pp. 1336-1338 (1996). Actualmente se ha descubierto que compuestos de fórmula (I):

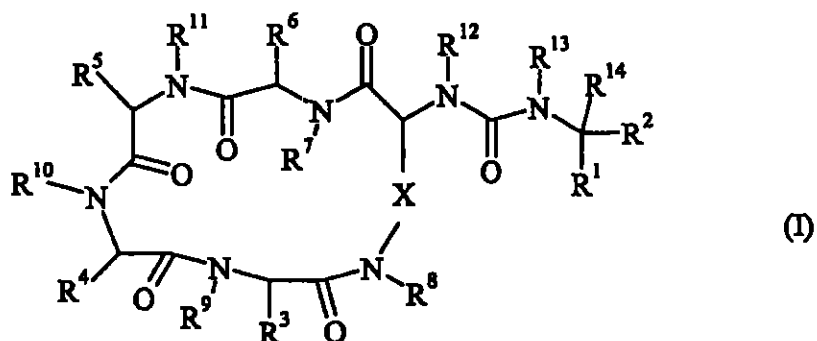


o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal, son particularmente efectivos como inhibidores de carboxipeptidasa U y, por lo tanto, son útiles como medicamentos para el tratamiento o profilaxis de afecciones en donde es benéfica la inhibición de carboxipeptidasa U, por ejemplo en el tratamiento o profilaxis de: trombosis y/o hipercoagulabilidad en sangre y/o tejidos; arteriosclerosis; adhesiones; cicatrización cutánea; cáncer; afecciones fibróticas; enfermedades inflamatorias; dolencias que se benefician de mantener o incrementar los niveles de bradicinina en el cuerpo de un mamífero (tal como el hombre); resistencia a la proteína C; deficiencias heredadas o adquiridas en antitrombina III, proteína C, proteína S o Cofactor II de heparina; choque septicémico o circulatorio; anticuerpos antifosfolípidos en circulación; hiperhomocisteinemia; trombocitopenia inducida por heparina; defectos en fibrinólisis; trombosis venosa; embolismo pulmonar; trombosis arterial (por ejemplo en infarto del miocardio, angina inestable, apoplejía con base en trombosis o trombosis arterial periférica); embolismo sistémico usualmente de la aurícula durante la fibrilación auricular o del ventrículo izquierdo luego de infarto del miocardio transparietal; la profilaxis de re-oclusión y restenosis (es decir, trombosis) después de trombólisis; intervención transluminal percutánea (PTI) y operaciones de derivación coronaria; la

4 

prevención de re-trombosis a raíz de microcirugía y cirugía vascular en general; coagulación intravascular diseminada, causada por bacterias, trauma múltiple, intoxicación o cualquier otro mecanismo; tratamiento fibrinolítico cuando la sangre está en contacto con superficies extrañas en el cuerpo, tales como injertos vasculares, endoprótesis vasculares, catéteres vasculares, válvulas protésicas mecánicas y biológicas o cualquier otro dispositivo médico; tratamiento fibrinolítico cuando la sangre está en contacto con dispositivos médicos fuera del cuerpo, tal como durante cirugía cardiovascular usando una máquina cardiovascular o en hemodiálisis; profilaxis de evolución arteriosclerótica y/o rechazo de transplantes en pacientes sujetos a transplante de órganos, por ejemplo transplante renal; inhibición de maduración o evolución de tumores; cualquier afección en la cual la fibrosis es un factor cooperante (por ejemplo fibrosis quística, enfermedad fibrótica pulmonar por ejemplo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome disneico agudo del adulto (ARDS), displasia fibromuscular, enfermedad pulmonar fibrótica o depósitos de fibrina en el ojo durante cirugía oftálmica); inflamación (tal como asma, artritis, endometriosis, enfermedades intestinales inflamatorias, psoriasis o dermatitis atópica); enfermedades neurodegenerativas tales como Alzheimer y Parkinson; o afecciones conocidas por beneficiarse de mantener o intensificar los niveles de bradicinina (tales como hipertensión, angina, insuficiencia cardíaca, hipertensión pulmonar, insuficiencia renal o insuficiencia orgánica).

Por consiguiente, la presente invención provee el uso de un compuesto de fórmula (I):



en donde:

46

X es $(CH_2)_m Y (CH_2)_n$;

m y n son, independientemente, 1, 2, 3, 4, 5 ó 6; con la salvedad que m + n no sea superior a 6;

Y es un enlace, O, S (O)_p, o S-S;

R¹ es CO₂R¹⁵ o un isómero de ácido carboxílico tal como S(O)₂OH, S(O)₂NHR¹⁵, PO(OR¹⁵)OH, PO(OR¹⁵)NH₂, B(OR¹⁵)₂, PO(R¹⁵)OH, PO(R¹⁵)NH₂ o tetrazol; R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son, independientemente, hidrógeno, C₁₋₆ alquilo (sustituido opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, SH, S(O)₃H, S(O)_q(C₁₋₆ alquilo), OC(O)(C₁₋₄alquilo), CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, COOH, CONH₂, CONH (C₁₋₆ alquilo), NH₂, CNH(NH₂), o NHCNH(NH₂)), C₃₋₆ cicloalquil(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo cicloalquilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) ó NHCNH(NH₂)), heterociclil(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo heterociclilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂)), fenil(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo fenilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂)) o heteroaril(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂));

p y q son, independientemente, 0, 1 ó 2;

R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² y R¹³ son, independientemente, H o C₁₋₄ alquilo;

R¹⁴ es H o C₁₋₄ alquilo; y,

R¹⁵ es H o C₁₋₄ alquilo;

o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal; en un método de fabricar un medicamento para el tratamiento o profilaxis de: trombosis y/o hipercoagulabilidad en sangre y/o tejidos; arteriosclerosis; adhesiones; cicatrización cutánea; cáncer; afecciones fibróticas; enfermedades inflamatorias; dolencias que se benefician de mantener o incrementar los niveles de bradicinina en el cuerpo de un mamífero (tal como el hombre); resistencia a la proteína C; deficiencias heredadas o

adquiridas en antitrombina III, proteína C, proteína S o Cofactor II de heparina; choque septicémico o circulatorio; anticuerpos antifosfolípidos en circulación; hiperhomocisteinemia; trombocitopenia inducida por heparina; defectos en fibrinólisis; trombosis venosa; embolismo pulmonar; trombosis arterial (por ejemplo en infarto del miocardio, angina inestable, apoplejía con base en trombosis o trombosis arterial periférica); embolismo sistémico usualmente de la aurícula durante la fibrilación auricular o del ventrículo izquierdo luego de infarto del miocardio transparietal; la profilaxis de re-oclusión y restenosis (es decir, trombosis) después de trombólisis; intervención transluminal percutánea (PTI) y operaciones de derivación coronaria; la prevención de re-trombosis a raíz de microcirugía y cirugía vascular en general; coagulación intravascular diseminada, causada por bacterias, trauma múltiple, intoxicación o cualquier otro mecanismo; tratamiento fibrinolítico cuando la sangre está en contacto con superficies extrañas en el cuerpo, tales como injertos vasculares, endoprótesis vasculares, catéteres vasculares, válvulas protésicas mecánicas y biológicas o cualquier otro dispositivo médico; tratamiento fibrinolítico cuando la sangre está en contacto con dispositivos médicos fuera del cuerpo, tal como durante cirugía cardiovascular usando una máquina cardiovascular o en hemodiálisis; profilaxis de evolución arteriosclerótica y/o rechazo de transplantes en pacientes sujetos a trasplante de órganos, por ejemplo trasplante renal; inhibición de maduración o evolución de tumores; cualquier afección en la cual la fibrosis es un factor cooperante (por ejemplo fibrosis quística, enfermedad fibrótica pulmonar por ejemplo enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), síndrome disneico agudo del adulto (ARDS), displasia fibromuscular, enfermedad pulmonar fibrótica o depósitos de fibrina en el ojo durante cirugía oftálmica); inflamación (tal como asma, artritis, endometriosis, enfermedades intestinales inflamatorias, psoriasis o dermatitis atópica); enfermedades neurodegenerativas tales como Alzheimer y Parkinson; o afecciones conocidas por beneficiarse de mantener o intensificar los niveles de

bradicinina (tales como hipertensión, angina, insuficiencia cardíaca, hipertensión pulmonar, insuficiencia renal o insuficiencia orgánica).

En el contexto de la presente invención, el término "terapia" incluye "profilaxis", a menos que haya indicaciones específicas en contrario. Los términos "terapéutico" y "terapéuticamente" deben entenderse en consecuencia.

En un aspecto particular la presente invención provee el uso de un compuesto de fórmula (I), como se describe aquí, en un método de fabricar un medicamento para el tratamiento o profilaxis de trombosis y/o hipercoagulabilidad en sangre y/o tejidos; arteriosclerosis; afecciones fibróticas; enfermedades inflamatorias; o una dolencia que se beneficia de mantener o incrementar los niveles de bradicinina en el cuerpo de un mamífero (tal como el hombre).

En otro aspecto la presente invención provee el uso de un compuesto de fórmula (I), como se describe aquí, en un método de fabricar un medicamento para el tratamiento o profilaxis de trombosis y/o hipercoagulabilidad en sangre y/o tejidos; arteriosclerosis; afecciones fibróticas; o una dolencia que se beneficia de mantener o incrementar los niveles de bradicinina en el cuerpo de un mamífero (tal como el hombre); por ejemplo un medicamento para el tratamiento o profilaxis de trombosis y/o hipercoagulabilidad en sangre y/o tejidos.

Los compuestos de fórmula (I) existen en formas isoméricas y la presente invención cubre la totalidad de tales formas y sus mezclas en todas las proporciones. Tanto los enantiómeros puros como las mezclas racémicas y mezclas iguales o desiguales de dos enantiómeros están dentro del ámbito de la presente invención. Debe entenderse igualmente que todas las formas diastereoméricas posibles están dentro del ámbito de la invención.

Compuestos de fórmula (I) pueden estar en la forma de una sal. Sales adecuadas incluyen sales de adición de ácido tales como clorhidrato, diclorhidrato, bromhidrato, fosfato, sulfato, acetato, diacetato, fumarato, maleato, tartrato, citrato, oxalato, metanosulfonato o *p*-toluenosulfonato.

Las sales incluyen igualmente sales de metal, tal como una sal de un metal alcalino (por ejemplo una sal de sodio o potasio) o una sal de metal alcalinotérreo (por ejemplo, magnesio o calcio).

El término C₁₋₄ alquilo denota un grupo alquilo recto o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono en la cadena. Ejemplos de alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo y terc-butilo.

El término C₁₋₄ alcoxi denota un grupo alquil-O, donde alquilo es de cadena recta o ramificada, y los ejemplos incluyen metoxi y etoxi.

Halógeno incluye fluoro, cloro, bromo y yodo (pero es, por ejemplo, fluoro, cloro o bromo).

Cicloalquilo es, por ejemplo, ciclopropilo, ciclopentilo o ciclohexilo.

El término heterociclilo denota un anillo no aromático que contiene carbono y por lo menos un (tal como uno o dos) átomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno azufre. Heterociclilo es, por ejemplo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo o morfolinilo.

El término heteroarilo denota un sistema de anillo aromático (por ejemplo un mono-ciclo un bi-ciclo) que contiene carbono y por lo menos un (tal como uno o dos) átomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre. Heteroarilo, es por ejemplo, furano, tiofeno, pirrol, oxazol, isoxazol, tiazol, imidazol, pirazol, isotiazol, oxadiazol, furazano, [1,2,3]-triazol, [1,2,4]-triazol, tiadiazol, piridina, piridazina, pirimidina, pirazina, indol o naftiridina.

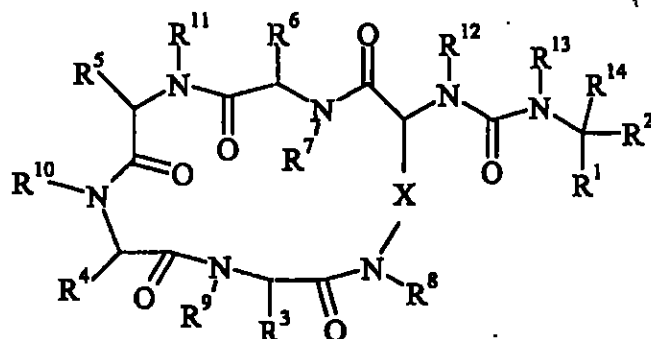
Fenilalquilo es por ejemplo bencilo o 1-fenilet-2-ilo.

Cicloalquilalquilo es, por ejemplo, ciclohexilmetilo.

Heteroalquilalquilo es, por ejemplo, indol-3-ilmetilo.

Heterociclilalquilo es, por ejemplo, piperidin-1-ilmetilo.

En otro aspecto la presente invención provee un compuesto de fórmula (I):



(I)

en donde:

X es $(CH_2)_4$;

R^1 es CO_2R^{15} ;

R^2 es un C_{1-6} alquilo de cadena recta sustituido en su término por NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; C_{3-6} cicloalquilo sustituido por NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; heterociclilo que contiene por lo menos un átomo de nitrógeno; heterociclilo que contiene no nitrógeno sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; heteroarilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; fenilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; heteroaril(C_{1-4})alquilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; fenil(C_{1-4})alquilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; o C_{3-6} cicloalquil(C_{1-4})alquilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; sustituyéndose la totalidad de los anillos anteriores, de manera opcional, por uno o más de: halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi ó OCF_3 ; uno de R^3 , R^4 , R^5 y R^6 es independientemente, hidrógeno, heteroaril(C_{1-4}) alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$); y los otros son, independientemente, hidrógeno, C_{1-6} alquilo (sustituido opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, SH , $S(O)_3H$, $S(O)_q(C_{1-6}$ alquilo), $OC(O)(C_{1-4}$ alquilo), CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , $COOH$, $CONH_2$, $CONH(C_{1-6}$ alquilo), NH_2 , $CNH(NH_2)$, o $NHCNH(NH_2)$), C_{3-6} cicloalquilo (C_{1-4})alquilo (en donde el anillo cicloalquilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$), heterociclil(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo heterociclilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4}

alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂),
 fenil(C₁₋₄) alquilo (en donde el anillo fenilo se sustituye opcionalmente por
 halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂,
 CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂)) o heteroaril(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo
 heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄
 alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂));

p y q son, independientemente, 0, 1 ó 2;

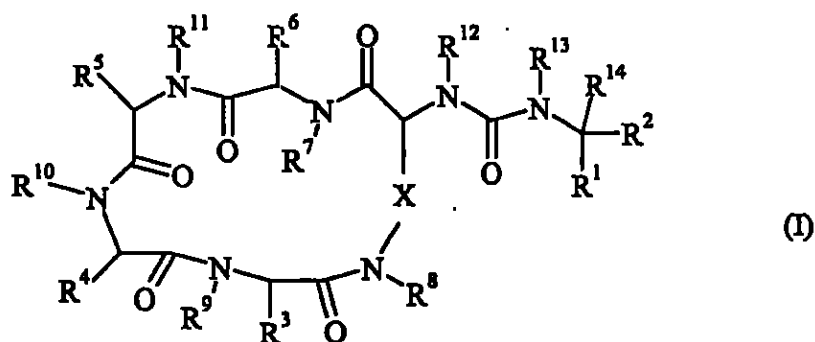
R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² y R¹³ son, independientemente, H o C₁₋₄ alquilo;

R¹⁴ es H o C₁₋₄ alquilo; y,

R¹⁵ es H o C₁₋₄ alquilo;

o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal.

En un aspecto adicional la presente invención provee un compuesto
 de fórmula (I):



en donde:

R¹ es CO₂R¹⁵;

R² es C₁₋₆ alquilo de cadena recta sustituido en su término por NH₂,
 CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); C₄ alquilo (tal como CH(CH₃)CH₂CH₃ o
 CH₂CH(CH₃)₂); o (aminopiridinil)metilo (por ejemplo (6-aminopiridin-3-
 il)metilo);

uno de R³ y R⁴ es (indol-3-il)CH₂ sustituido opcionalmente por halo o
 hidroxilo; y el otro es bencilo (sustituido opcionalmente por halo o hidroxilo) o
 C₄ alquilo (tal como CH(CH₃)CH₂CH₃ o CH₂CH(CH₃)₂);

o R³ y R⁴ son ambos metilo;

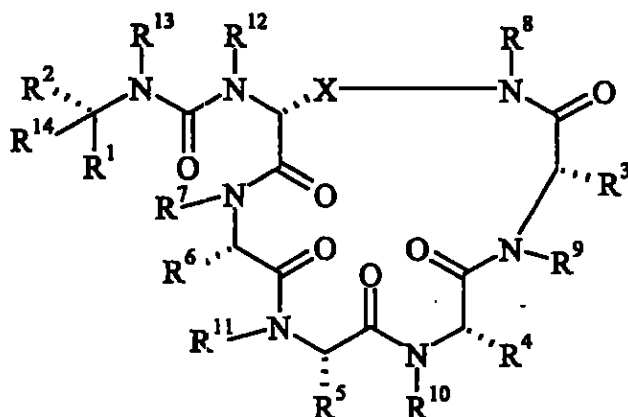
R⁵ y R⁶ son, independientemente, C₁₋₆ alquilo (por ejemplo CH₃, CH(CH₃)₂,
 CH(CH₃)CH₂CH₃ o CH₂CH(CH₃)₂);

R⁷, R⁸, R⁹, R¹¹, R¹², R¹³ y R¹⁴ son H;

R^{10} es C_{1-4} alquilo; y,

R^{15} es H o C_{1-4} alquilo.

En otro aspecto la presente invención provee un compuesto de fórmula (I) con la quiralidad indicada a continuación:



En un aspecto de la invención X es $(CH_2)_4$.

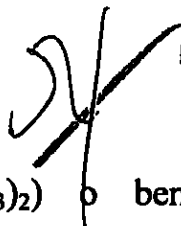
En un aspecto adicional de la invención R^1 es CO_2R^{15} en donde R^{15} es H o C_{1-4} alquilo (por ejemplo metilo).

En otro aspecto R^2 es C_{1-6} alquilo de cadena recta sustituido en su término por NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; C_4 alquilo (tal como $CH(CH_3)CH_2CH_3$ o $CH_2CH(CH_3)_2$); o (aminopiridinil) metilo (por ejemplo (6-aminopiridin-3-il)metilo).

En todavía otro aspecto de la invención R^2 es C_{1-6} alquilo (tal como iso-propilo, $CH(CH_3)CH_2CH_3$ o $CH_2CH(CH_3)_2$), bencilo, o C_{1-6} alquilo de cadena recta sustituido en su término por NH_2 , $CNH(NH_2)$, $NHCNH(NH_2)$ o (6-aminopiridin-3-il)metilo. En otro aspecto R^2 es C_{1-6} alquilo de cadena recta sustituido en su término por NH_2 , $CNH(NH_2)$, $NHCNH(NH_2)$ o (6-aminopiridin-3-il)metilo.

En todavía otro aspecto de la invención R^3 es CH_2 indolilo (en donde el indolilo se sustituye opcionalmente por uno o más de: halógeno (por ejemplo cloro o bromo) o hidroxilo), C_{1-4} alquilo o bencilo (sustituido opcionalmente por halógeno (por ejemplo bromo) o hidroxilo).

En otro aspecto de la invención R^4 es CH_2 indolilo (en donde el indolilo se sustituye opcionalmente por uno o más de: halógeno (por ejemplo cloro o bromo) o hidroxilo), C_{1-6} alquilo (tal como metilo, iso-



53

propilo, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ o $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ o bencilo (sustituido opcionalmente por halógeno (por ejemplo bromo) o hidroxilo).

En un aspecto adicional de la invención R^5 y R^6 son, independientemente, C_{1-6} alquilo (tal como metilo, iso-propilo, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ o $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

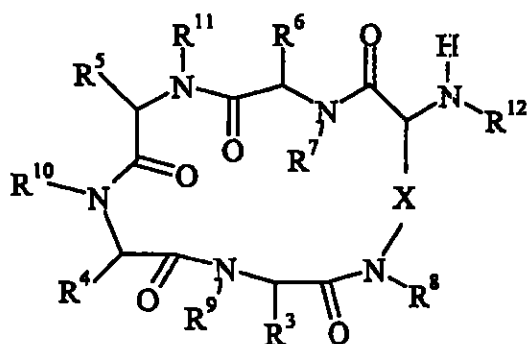
En otro aspecto de la invención R^7 , R^8 , R^9 , R^{11} , R^{12} , R^{13} y R^{14} son todos H.

En todavía otro aspecto de la invención R^{10} es C_{1-4} alquilo (por ejemplo metilo).

En todavía un aspecto adicional la invención provee un compuesto de fórmula (I) que es Compuesto 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 ó 16, o su sal o solvato farmacéuticamente aceptable, o un solvato de su sal farmacéuticamente aceptable.

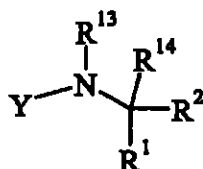
Los compuestos de la presente invención pueden prepararse por métodos conocidos en el arte o análogos a los métodos de Ejemplos 3 y 4. Se observará que, cuando se adaptan métodos de la literatura o de Ejemplos 3 y 4, los grupos funcionales de compuestos intermedios necesitan protegerse por grupos protectores. Los grupos funcionales, que es deseable proteger, incluyen hidroxilo, carboxilato y grupos amino. Grupos protectores apropiados para hidroxilo incluyen trialkilsililo o dialkylalkilsililo (por ejemplo *tert*-butildimetilsililo, *tert*-butildifenilsililo o trimetilsililo), tetrahidropirano, *tert*-butilo, metoximetilo, benciloximetilo y 4-metoxibencilo. Grupos protectores apropiados para carboxilato incluyen alilo, etilo, *tert*-butilo y ésteres de bencilo. Grupos protectores adecuados para amino incluyen *tert*-butiloxycarbonilo, 2,4,6-trimetoxibencilo y benciloxycarbonilo. El uso de grupos protectores se describe en 'Protective Groups in Organic Synthesis', third edition, T.W. Greene & P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (1999). El grupo protector puede ser asimismo una resina polimérica tal como resina de ácido 4-hidroximetil-3-metoxifenoxibutírico o una resina de 2-clorotril cloruro.

Por consiguiente, compuestos de fórmula I pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula VII



(VII)

en donde R³ a R¹² y X son como se definen más arriba, con un compuesto de fórmula VIII

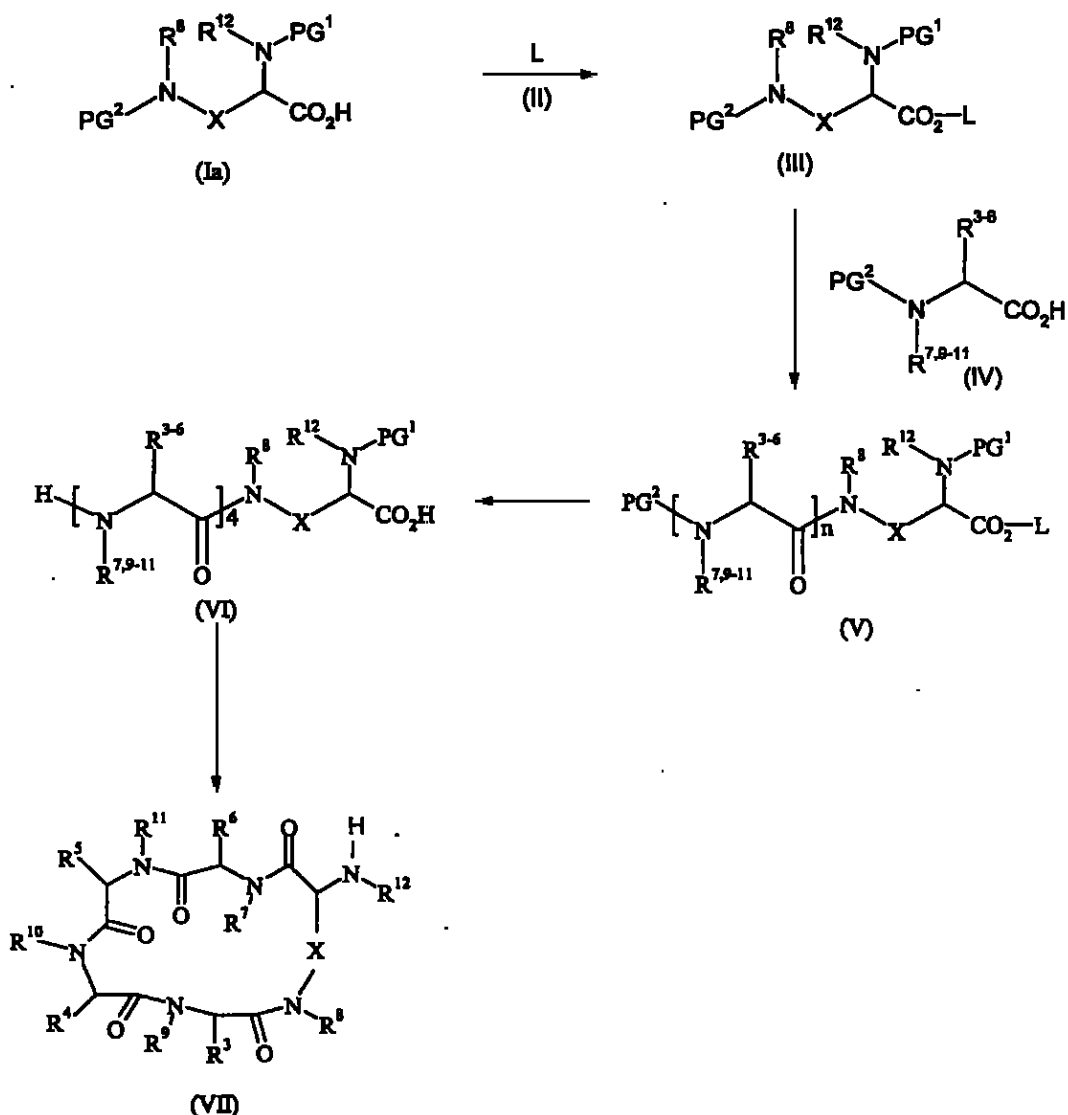


(VIII)

en la cual R¹, R², R¹³, R¹⁴ son como se definen en fórmula I, y Y es un residuo ácido activado tal como 4-nitrofenoxycarbonilo o un equivalente de aminocarbonilo activado tal como N=C=O. Valores particulares de Y incluyen ésteres activados tales como 4-nitrofenoxycarbonilo y *tert*-butoxycarbonilo. Un valor preferido para Y es 4-nitrofenoxycarbonilo. Otros valores incluyen aquellos en los cuales YN es un grupo isocianato. La reacción se llevará generalmente a cabo en un disolvente apropiado tal como DMF (u otro disolvente aprótico) y en la presencia de una base no nucleofílica tal como DIEA.

El intermedio de fórmula VII puede prepararse en la siguiente forma:

14



a) Síntesis de Compuesto III

Un compuesto de fórmula Ia se disuelve en un disolvente aprótico no polar tal como DCM o THF, en la presencia de una base no nucleófila tal como DIEA; luego se hace reaccionar con un soporte sólido tal como 2-clorotritilo a temperatura de la sala por 2 horas. Luego de este tiempo, cualquier soporte sólido sin reaccionar se tapona (*"is capped"*) (Compuesto II) usando metanol. A continuación, se filtra la resina y se lava secuencialmente con DMF, DCM y DMF.

b) Síntesis de un compuesto de fórmula (n=4)

Un compuesto de fórmula III / V ($n = 1-3$) se somete a síntesis de péptido de fase sólida como se describe a continuación:

50

PG² (en este ejemplo Fmoc) se retira de Compuesto III / V (n = 1-3) usando 20% de piperidina en DMF y se lava la resina resultante secuencialmente con DMF, DCM y DMF. Un compuesto de fórmula IV se activa previamente mediante la adición de un agente de acoplamiento tal como HBTU o HATU en un disolvente aprótico polar tal como DMF o DMSO, luego se agrega al compuesto desprotegido de fórmula III / V (n = 1-3). El acoplamiento de péptido se inicia mediante la adición de una base no nucleófila tal como DIEA, y la mezcla de reacción se agita por 1-2 horas. En seguida se filtra la resina y se lava secuencialmente con DMF, DCM y DMF.

b) Síntesis de un compuesto de fórmula VI

PG² (en este ejemplo Fmoc) se retira de Compuesto V (n = 4) usando 20% de piperidina en DMF y la resina resultante se lava secuencialmente con DMF, DCM y DMF. El compuesto de fórmula VI se saca del soporte sólido sin la pérdida de PG¹ mediante el lavado de flujo rápido de un compuesto de fórmula V (n = 4) con ácido diluido en un disolvente aprótico y dilución inmediata del producto en un gran volumen de disolvente. Un lavado de flujo de 2% TFA en DCM en un volumen equivalente de agua es un ejemplo de este procedimiento.

b) Síntesis de un compuesto de fórmula VII

DIEA o la base no nucleófila equivalente se agregan a un compuesto de fórmula VI en un disolvente aprótico polar tal como DMF o DMSO. La solución resultante de un compuesto de fórmula VI se cicliziza bajo condiciones de alta dilución mediante la adición gota a gota a una solución de agente de acoplamiento tal como PyBOP en un disolvente aprótico polar tal como DMF o DMSO. La mezcla de reacción se evapora a sequedad y se retiran los grupos protectores restantes, lábiles a un ácido (por ejemplo PG¹) usando un ácido fuerte (TFA, HCl) con secuestrantes agregados (TIPS, p-cresol, agua o tiocresol). La mezcla de reacción se evapora nuevamente a sequedad antes de la purificación por Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia de Fase Reversa (RPHPLC) para producir el compuesto de fórmula VII. En fórmula VII PG¹ es un grupo protector apropiado tal como

cualquier grupo protector nitrógeno lábil a un ácido, por ejemplo, Boc, es decir estable a condiciones básicas requeridas para retirar el PG². PG² es cualquier grupo protector nitrógeno lábil a una base tal como Fmoc que puede eliminarse sin segmentar también el enlazador L o retirar el PG¹. En los pasos del proceso anterior la referencia a un "agente de acoplamiento" se refiere a cualquier grupo que activa un ácido carboxílico hacia un ataque nucleófilo. Ejemplos incluyen precursores de ésteres activados tales como p-nitrofenol y hexafluorofenol, derivados de carbodiimida tales como DIC y DCC, sales de benzotriazolil-tetrametilfosfonio tales como BOP y PyBOP, sales de benzotriazolil-tetrametiluronio tales como HBTU y HATU. L es cualquier enlazador extremadamente lábil a un ácido para ácidos carboxílicos en soporte sólido, que es estable a condiciones requeridas para retirar PG², tal como el enlazador 2-clorotritil cloruro, resina de ácido de Rink, enlazador de ácido 4-hidroximetil-3- metoxifenoxibutírico.

Los novedosos procesos para preparar los intermedios y los novedosos intermedios mencionados aquí son asimismo características de la presente invención.

Alternativamente, un compuesto de fórmula (I) puede aislarse de fuentes naturales usando la metodología de los Ejemplos 1 ó 2.

De igual forma, los compuestos de la invención pueden combinarse y/o co-administrarse con cualquier agente antitrombótico con un mecanismo diferente de acción, tal como un anticoagulante (por ejemplo un antagonista de vitamina K, una heparina no fraccionada o de bajo peso molecular, un fragmento de heparina sintética tal como fondaparinux, un inhibidor de trombina, un inhibidor de factor Xa u otro factor de coagulación/inhibidor de enzima, un factor de coagulación recombinante tal como una proteína C activada, humana, recombinante) o un agente antiplaquetario (tal como ácido acetilsalicílico, dipiridamol, ticlopidina, clopidogrel u otro antagonista de receptor ADP [tal como P2Y₁₂ ó P2Y₁], un inhibidor de receptor de tromboxano y/o sintetasa, un antagonista de

receptor de fibrinógeno, un inhibidor de mimético de prostaciclina o fosfodiesterasa).

Los compuestos de la invención pueden combinarse además y/o co-administrarse con trombolíticos tales como activador de plasminógeno tisular (natural, recombinante o modificado), estreptocinasa, urocinasa, prourocinasa, complejo activador de estreptocinasa-plasminógeno anisoilado (APSAC), activadores de plasminógeno de glándula salival animal, y similares, en el tratamiento de enfermedades trombóticas, en particular infarto del miocardio, apoplejía isquémica ("*ischaemic stroke*") y embolismo pulmonar masivo.

Por lo tanto, en un aspecto adicional la presente invención provee una combinación (combinada y/o co-administrada) de un compuesto de fórmula (I), en donde X es $(CH_2)_m Y (CH_2)_n$; m y n son, independientemente, 1, 2, 3, 4, 5 ó 6; con la salvedad que $m + n$ no sea superior a 6; Y es un enlace, O, $S(O)_p$, o S-S; R^1 es CO_2R^{15} o un isómero de ácido carboxílico tal como $S(O)_2OH$, $S(O)_2NHR^{15}$, $PO(OR^{15})OH$, $PO(OR^{15})NH_2$, $B(OR^{15})_2$, $PO(R^{15})OH$, $PO(R^{15})NH_2$ o tetrazol; R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son, independientemente, hidrógeno, C_{1-6} alquilo (sustituido opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, SH, $S(O)_3H$, $S(O)_q(C_{1-6}$ alquilo), $OC(O)(C_{1-4}$ alquilo), CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , $COOH$, $CONH_2$, $CONH(C_{1-6}$ alquilo), NH_2 , $CNH(NH_2)$, o $NHCNH(NH_2)$), C_{3-6} cicloalquil(C_{1-4}) alquilo (en donde el anillo cicloalquilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$), heterocicli(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo heterociclilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$), fenil(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo fenilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$) o heteroaril(C_{1-4}) alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$); p y q son, independientemente, 0, 1 ó 2; R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} y R^{13} son,

independientemente, H o C₁₋₄ alquilo; R¹⁴ es H o C₁₋₄ alquilo; y R¹⁵ es H o C₁₋₄ alquilo; o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal; y un agente antitrombótico con un mecanismo diferente de acción, tal como un anticoagulante (por ejemplo un antagonista de vitamina K, una heparina no fraccionada o de bajo peso molecular, un fragmento de heparina sintética tal como fondaparinux, un inhibidor de trombina, un inhibidor de factor Xa u otro factor de coagulación/inhibidor de enzima, un factor de coagulación recombinante tal como una proteína C activada, humana, recombinante) o un agente anti-plaquetario (tal como ácido acetilsalicílico, dipyridamol, ticlopidina, clopidogrel u otro antagonista de receptor ADP [tal como P2Y₁₂ ó P2Y₁], un inhibidor de receptor de tromboxano y/o sintetasa, un antagonista de receptor de fibrinógeno, un inhibidor de mimético de prostaciclina o fosfodiesterasa) o un trombolítico tales como activador de plasminógeno tisular (natural, recombinante o modificado), estreptocinasa, urocina, prourocinasa, complejo activador de estreptocinasa-plasminógeno anisoilado (APSAC), activadores de plasminógeno de glándula salival animal.

Los compuestos de la invención deben tener una selectividad para carboxipeptidasa U sobre la carboxipeptidasa N de 50:1, por ejemplo > 100:1, usando el análisis descrito a continuación.

El efecto inhibidor de los compuestos de la presente invención se calculó usando el análisis descrito en: Dirk Hendriks, Simon Scharpé and Marc van Sande, Clinical Chemistry, 31, 1936-1939 (1985); and Wei Wang, Dirk F. Hendriks, Simon S. Scharpé, The Journal of Biological Chemistry, 269, 15937-15944 (1994), usando una concentración del sustrato de 4 mM.

La invención contempla asimismo un método de tratar una enfermedad donde la inhibición de la carboxipeptidasa U es benéfica en un mamífero que padece de, o en riesgo de, dicha afección, el cual comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal, como se define anteriormente.

Para los usos terapéuticos ya mencionados la posología administrada variará con el compuesto empleado, el modo de administración, el tratamiento deseado y el trastorno indicado.

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables, solvatos o sulfatos de sus sales pueden usarse en sí mismos, pero se administrarán generalmente en la forma de una composición farmacéutica en la cual el compuesto de fórmula (I), sal, solvato o solvato de sal (ingrediente activo) está en asociación con un coadyuvante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá, por ejemplo, de 0.05 a 99 % p (por ciento en peso), tal como de 0.05 a 80 % p, por ejemplo de 0.10 a 70 % p, tal como de 0.10 a 50 % p, de ingrediente activo, basándose todos los porcentajes en peso en la composición total.

Por consiguiente, la presente invención provee asimismo una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal, como se define anteriormente, en asociación con un coadyuvante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención provee igualmente un proceso para la preparación de una composición farmacéutica de la invención, el cual comprende mezclar un compuesto de fórmula (I), o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal, como se define anteriormente, con un coadyuvante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

También incluidos en la invención se encuentran derivados de compuestos de fórmula (I) los cuales poseen la función biológica de los compuestos de fórmula (I), tales como profármacos. Los profármacos son, por ejemplo, metilo, (pivaloiloxi)metil ésteres y [(etoxicarbonil)oxi]metil ésteres de ácidos carboxílicos.

Los siguientes Ejemplos ilustran la invención.

EJEMPLO 1

Este Ejemplo describe el aislamiento de Compuestos 1 a 10.

Procedimientos Experimentales Generales

67
61

Se filtró agua Milli-Q, mientras que todos los demás disolventes utilizados fueron Omnisolv. Se emplearon una columna YMC básica C18 5uM, 21.2 mm x 150 mm y una columna Hypersil BDS C18 5uM, 21.2 x 150 mm para HPLC preparativa. Se registraron los espectros NMR en un espectrómetro NMR Varian Inova 600 ó 500 MHz. Se disolvieron muestras en d_6 -DMSO y se calcularon los desplazamientos químicos en relación con el pico del disolvente (DMSO ^1H $\square$ 2.49 y ^{13}C 39.5 ppm). Se midieron los espectros de masa en una Plataforma II Fisons VG, usando el modo de ionización por electropulverización positiva. El disolvente de elución era una mezcla de acetonitrilo/agua 50% a 0.1 ml/min.

Material Animal

La esponja (*Melophlus* sp.) se recogió por buceo con escafandra del Arrecife de Cinta No. 5, Australia y una muestra certificada ("*a voucher sample*") (G319104) se deposita en el Museo de Queensland, Brisbane, Australia.

Extracción y Aislamiento

Una muestra molida, secada por congelamiento, de la esponja *Melophlus* sp (128g) recogida del Arrecife de Cinta No. 5 en el lejano norte de Queensland, Australia se extrajo exhaustivamente con metanol (21). El disolvente se evaporó para producir un residuo marrón oscuro (28g). El residuo se re-disolvió en una mezcla de EtOAc (20mL) y agua (60 mL) y se separó mediante cromatografía de contracorriente de gotículas con agua como la fase estacionaria y una gradiente de EtOAc a butanol como la fase móvil a 5mL/min. Se recogieron fracciones de dos minutos y se analizó cada segunda fracción mediante espectrometría de masa con electropulverización. Se combinaron fracciones similares que produjeron 5 fracciones. La fracción 2 (320 mg) se separó mediante cromatografía de partición centrífuga (Sanki CPC, modo ascendente) usando una mezcla de tridisolvente $CHCl_3/MeOH/H_2O$ (7:13:8) con la fase inferior como fase estacionaria. Se empleó un caudal de 2mL/min y se recogieron fracciones de dos minutos durante 360 minutos. Cada fracción de segundo se analizó mediante espectrometría de masa con electropulverización y se combinaron

fracciones similares. Las fracciones 91-101 se combinaron para producir Compuesto 2 no puro (10.8 mg) y las fracciones 107-120 se combinaron para producir Compuesto 1 no puro (12.4 mg). Las fracciones de péptido no puras de los Compuestos 1 y 2 se dividieron cada una en porciones entre TFA acuoso (1%) y hexano. Las capas acuosas de cada partición contenían Compuesto 2 puro (9.5 mg) y Compuesto 1 (11.5 mg). Las fracciones 1, 3 y 4 de la separación DCCC original se combinaron con las fracciones restantes de la separación CPC y se absorbieron previamente en C18 (3g). Las fracciones pre-absorbidas se separaron aún más mediante C18 HPLC Hypersil BDS C18 (5µM, 20mm x 150 mm) usando una gradiente de agua/metanol que contenía 1 % TFA a metanol que contenía 1 % TFA a 10 mL/min durante 60 minutos.

Se recogieron fracciones de un minuto y todas las fracciones se analizaron por espectrometría de masa con electropulverización. Las fracciones similares se combinaron. Las fracciones 51-58 contenían péptidos relacionados con los Compuestos 1 y 2, y se combinaron (fracción A; 65 mg). Esta fracción de péptido A se purificó aún más por RP HPLC en una columna YMC básica C18 5 µM, 20 mm x 150 mm elución con 65 % de agua (que contenía 1% TFA) y 35% MeCN (que contenía 1% TFA) a un caudal de 10 mL/min. Se recogieron fracciones de doce segundos durante 36 minutos. Las fracciones 58-60 fueron Compuesto puro 2 (11 mg), las fracciones 67-69 fueron Compuesto puro 1 (11 mg), las fracciones 70-72 fueron Compuesto puro 3 (2 mg), las fracciones 73-77 fueron Compuesto puro 7 (11.2 mg), las fracciones 79-82 fueron Compuesto puro 4 (7.29 mg), las fracciones 91-96 fueron Compuesto puro 8 (8.75 mg), las fracciones 101-106 fueron Compuesto puro 9 (6.02 mg), las fracciones 118-125 fueron Compuesto puro 5 (2.08 mg), las fracciones 128-138 fueron Compuesto puro 10 (5.73 mg) y las fracciones 140-150 fueron Compuesto puro 6 (5.94 mg).

Compuesto 1: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 826. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 1.

Compuesto 2: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 876, 878. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 2.

Compuesto 3: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 890, 892. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 3.

Compuesto 4: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 840. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 4.

Compuesto 5: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 860, 862. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 5.

Compuesto 6: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 861, 863. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 6.

Compuesto 7: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 895, 897. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 7.

Compuesto 8: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 909, 911. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 8.

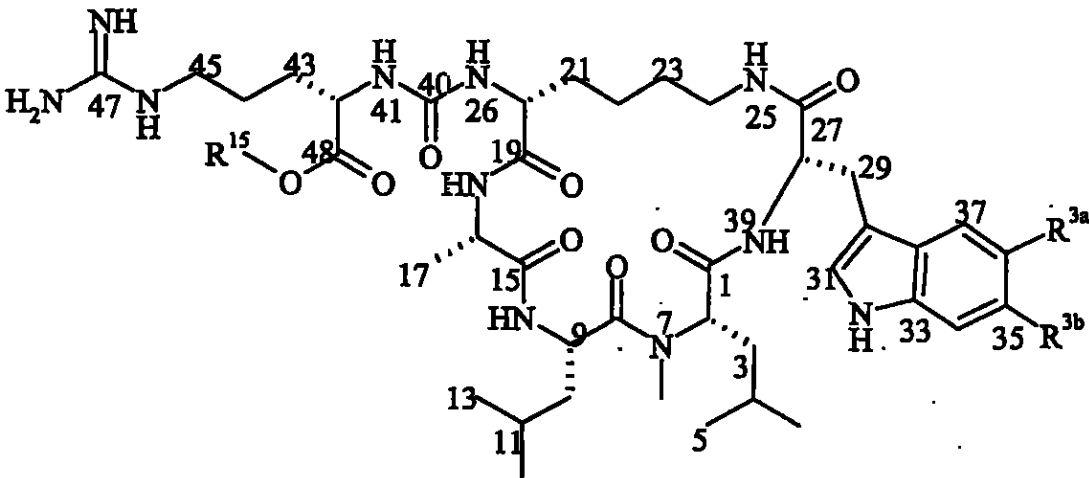
Compuesto 9: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 909, 911. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DMSO): véase Tabla 9.

Compuesto 10: MS: (ESI positiva) $[M+H]^+$ m/z 973, 975, 977. ^1H y ^{13}C NMR (d_6 -DSO): véase Tabla 10.

Luego de estudios extensivos que incluían experimentos ^1H , gHSQC, gHMBC, y gCOSY, los Compuestos 1-10 se identificaron como péptidos cíclicos. La estereoquímica absoluta de Compuesto 1 se confirmó por análisis de difracción de rayos X de cristal único.

Compuestos 1-5

64



R ^{3a}	R ^{3b}	R ¹⁵	
H	H	H	Compuesto 1
OH	Cl	H	Compuesto 2
OH	Cl	CH ₃	Compuesto 3
H	H	CH ₃	Compuesto 4
H	Cl	H	Compuesto 5

Tabla 1 1H (600 MHz), 13C (125 MHz), HMBC y COSY
Datos NMR para Compuesto 1 en d6-DMSO

Átomo No.	13C (mult) ^a	1H (mult, J Hz)	Correlaciones 23J _{CH}	COSY
N-Metil leucina				
1	169.3 (s)	-	-	-
2	58.2 (d)	4.72 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	1, 3, 4, 7-NMe, 8	H3a, H3b
3	36.6 (t)	1.22 (m, 1H)	1, 2, 5, 6	H2, H3b, H4
		1.63 (m, 1H)	2, 4, 5, 6	H2, H3a, H4
4	24.3 (d)	1.34 (m, 1H)	2, 3, 5, 6	H3a, H3b, H5, H6
5	22.2 (q)	0.85 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	23.1 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe leucina	27.6 (q)	1.81 (s, 3H)	2, 8	-
8	172.8 (s)	-	-	-
9	45.7 (d)	4.77 (ddc, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	10, 11, 8	H10a, H10b, H14
10	39.8 (t)	1.66 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11
		1.17 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	24.7 (d)	1.82 (m, 1H)	10	H10a, H10b, H12, H13
12	21.6 (q)	0.87 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	22.9 (q)	0.91 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.73 (d, 4.9 Hz, 1H)	10, 15, 16	H9
Alanina				
15	174.1 (s)	-	-	-
16	47.9 (d)	4.20 (dq, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	15, 17	H17, H18
17	16.7 (q)	1.30 (d, 7.8 Hz, 3H)	15, 16	H16



18	-	7.20 (d, 4.9 Hz, 1H)	19, 20, 16, 17	H16
Lisina				
19	172.7 (s)	-	-	-
20	54.6 (d)	3.92 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22, 40	H21, H26
21	32.5 (t)	1.65 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.3 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
23	28.3 (t)	1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
24	38.0 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
25	-	2.75 (m, 1H)	27	H23, H24b, H25
26	-	3.58 (m, 1H)	22, 23	H23, H24a, H25
Triptófano				
27	171.4 (s)	7.44 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	27	H24a, H24b
28	53.9 (d)	6.45 (d, 6.8 Hz, 1H)	39, 20, 21	H20
29	27.9 (t)	-	-	-
30	110.4 (s)	4.40 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	1, 27, 30	H29a, H29b, H39
31	124.0 (d)	2.88 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29b
32	-	3.35 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29a
33	136.5 (s)	-	-	-
34	111.5 (d)	6.68 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
35	121.0 (d)	10.80 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
36	118.5 (d)	7.24 (d, 7.8 Hz, 1H)	36, 38	H35, H36
37	116.9(d)	7.00 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	33, 37	H34, H36
38	127.0 (s)	6.92 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	34, 38	H35, H37
39	-	7.20 (d, 7.8 Hz, 1H)	35, 33	H36, H35
40	157.5 (s)	-	-	-
Arginina				
41	-	8.62 (d, 8.8 Hz, 1H)	1, 28, 29	H28
42	52.9 (d)	-	-	-
43	29.1 (t)	6.42 (d, 7.8 Hz, 1H)	43, 42, 48, 40	H42
44	25.1 (t)	4.05 (ddd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	41, 43, 44, 48	H41, H43a, H43b
45	40.0 (t)	1.52 (m, 1H)	-	H42, H44, H43b
46	-	1.69 (m, 1H)	-	H42, H43a, H44
47	156.9 (s)	1.40 (m, 2H)	-	H43a, H43b, H45
48	175.1 (s)	3.06 (dt, 5.9, 5.9 Hz, 2H)	43, 44, 47	H45, H46
		7.64 (t, 5.9 Hz, 1H)	45, 47	H45
		-	-	-
		-	-	-

^a Desplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares 2D

Tabla 2 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), NBC y COSY
Datos NMR para Compuesto 2 en d₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	Correlaciones ^{2,3} J _{CH}	COSY
N-Metil leucina				
1	169.4 (s)	-	-	-
2	58.4 (d)	4.72 (dd, 5.9, 7.8 Hz, 1H)	1, 3, 4, 8, 7-NMe	H3a, H3b
3	36.5 (t)	1.22 (m, 1H)	2, 4, 5, 6	H2, H3b, H4
4	23.8 (d)	1.63 (m, 1H)	2, 4, 5, 6	H2, H3a, H4
5	22.1 (q)	1.32 (m, 1H)	2, 3, 5, 6	H3a, H3b, H5, H6
6	22.8 (q)	0.86 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
NMe	27.7 (q)	0.83 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
leucina		1.80 (s, 3H)	2, 8	-
8	172.9 (s)	-	-	-

9	47.8 (d)	4.77 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	39.9 (t)	1.66 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11
		1.17 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	23.4 (d)	1.82 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	22.5 (q)	0.88 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	23.0 (q)	0.93 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.74 (d, 5.9 Hz, 1H)	9, 10, 15	H9
Alanina				
15	174.0 (s)	-	-	-
16	48.0 (d)	4.17 (dq, 3.8, 6.8 Hz, 1H)	15, 17	H17, H18
17	16.8 (q)	1.29 (d, 6.8 Hz, 3H)	15, 16	H16
18		7.16 (d, 3.9 Hz, 1H)	19, 16, 17	H16
Lisina				
19	172.5 (s)	-	-	-
20	53.9 (d)	3.92 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22, 40	H21, H26
21	32.9 (t)	1.57 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
23	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
24	37.0 (t)	2.75 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25
		3.56 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	-	7.45 (dd, 1.2, 6.8 Hz, 1H)	27, 19	H24a, H24b
26	-	6.45 (d, 5.8 Hz, 1H)	-	H20
Triptófano				
27	170.6 (s)	-	-	-
28	53.7 (d)	4.38 (ddd, 2.9, 8.8, 12.7 Hz, 1H)	-	H29a, H29b, H39
29	27.9 (t)	2.83 (dd, 12.7, 12.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29b
		3.31 (dd, 2.9, 12.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29a
30	109.3 (s)	-	-	-
31	124.1 (d)	6.60 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
32	-	10.60 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
33	131.1 (s)	-	-	-
34	111.1 (d)	7.20 (s, 1H)	35, 36, 38	-
35	115.0 (s)	-	-	-
36	145.9 (s)	-	-	-
37	102.1 (d)	7.01 (s, 1H)	30, 35, 33, 36	-
38	126.3 (s)	-	-	-
39	-	8.64 (d, 9.8 Hz, 1H)	1	H28
40	157.7 (s)	-	-	-
Arginina				
41	-	6.36 (d, 5.6 Hz, 1H)	41, 42, 47	H42
42	52.7 (d)	4.07 (ddd, 5.6, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	43, 44, 48	H41, H43a, H43b
43	29.2 (t)	1.52 (m, 1H)	-	H42, H43b, H44
		1.69 (m, 1H)	-	H42, H43a, H44
44	25.3 (t)	1.46 (m, 2H)	-	H43a, H43b, H45
45	40.7 (t)	3.06 (m, 2H)	43, 44, 47	H46, H45
46	-	7.53 (m, 1H)	45, 47	H45
47	157.0 (s)	-	-	-
48	174.5 (s)	-	-	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares 2D

Tabla 3 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC y COSY
Datos NMR para Compuesto 3 en *d*₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, <i>J</i> Hz)	Correlaciones ²³ <i>J</i> _{CH}	COSY
N-Metil leucina				
1	168.9 (s)	-	-	-
2	57.2 (d)	4.77 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	8	H3a, H3b
3	35.9 (t)	1.20 (m, 1H)	-	H2, H3b, H4
		1.71 (m, 1H)	-	H2, H3a, H4

4	24.2 (d)	1.35 (m, 1H)	-	H3a, H3b, H5, H6
5	23.0 (q)	0.85 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	23.3 (q)	0.88 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	26.9 (q)	1.87 (s, 3H)	2, 8	-
leucina				
8	172.2 (s)	-	-	-
9	47.8 (d)	4.79 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	39.4 (t)	1.70 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11
		1.22 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	24.1 (d)	1.84 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	21.5 (q)	0.90 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	23.0 (q)	0.95 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.76 (d, 4.9 Hz, 1H)	15	H9
Alanina				
15	173.6 (3)	-	-	-
16	47.5 (d)	4.19 (dq, 5.8, 6.8 Hz, 1H)	-	H17, H18
17	16.5 (q)	1.32 (d, 6.8 Hz, 3H)	15, 16	H16
18	-	7.22 (d, 5.9 Hz, 1H)	19	H16
Lisina				
19	171.9 (s)	-	-	-
20	54.2 (d)	3.94 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22	H21, H26
21	31.7 (t)	1.60 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
23	27.2 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
24	38.1 (t)	2.78 (m, 1H)	27	H23, H24b, H25
		3.60 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	-	7.42 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	27	H24a, H24b
26	-	6.31 (d, 6.8 Hz, 1H)	40	H20
Triptófano				
27	172.8 (s)	-	-	-
28	53.7 (d)	4.39 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	-	H29a, H29b, H39
29	27.9 (t)	2.86 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29b
		3.27 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H28, H29a
30	109.4 (s)	-	-	-
31	124.5 (d)	6.62 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
32	-	10.65 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
33	130.4 (s)	-	-	-
34	111.2 (d)	7.22 (s, 1H)	36, 38	-
35	115.3 (s)	-	-	-
36	145.6 (s)	-	-	-
37	102.5 (d)	7.00 (s, 1H)	30, 35, 33	-
38	125.9 (s)	-	-	-
39	-	8.67 (d, 3.8 Hz, 1H)	-	H28
40	157.2 (s)	-	-	-
Arginina				
41	-	6.50 (d, 7.8 Hz, 1H)	40	H42
42	51.9 (d)	4.05 (ddd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	47	H41, H43a, H43b
43	28.7 (t)	1.56 (m, 1H)	-	H42, H43b, H44
		1.74 (m, 1H)	-	H42, H43a, H44
44	24.9 (t)	1.46 (m, 2H)	-	H43a, H43b, H45
45	39.7 (t)	3.09 (dt, 5.9, 5.9 Hz, 2H)	47	H46, H45
46	-	7.42 (t, 5.9 Hz, 1H)	47	H45
47	156.4 (s)	-	-	-
48	173.1 (s)	-	-	-
48-Me	51.8 (q)	3.62 (s, 3H)	48	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares

2D

Tabla 4 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), y COSY
Datos NMR para Compuesto 4 en *d*₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	COSY
N-Metil leucina			
1	n.o.	-	-
2	57.9 (d)	4.78 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	H3a, H3b
3	36.1 (t)	1.27 (m, 1H)	H2, H3b, H4
		1.68 (m, 1H)	H2, H3a, H4
4	24.1 (d)	1.37 (m, 1H)	H3a, H3b, H5, H6
5	23.7 (q)	0.79 (d, 6.8 Hz, 3H)	H4
6	20.9 (q)	0.83 (d, 6.8 Hz, 3H)	H4
NMe	27.3 (q)	1.81 (s, 3H)	-
leucina			
8	n.o.	-	-
9	47.0 (d)	4.78 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	H10a, H10b, H14
10	40.0 (t)	1.63 (m, 1H)	H9, H10b, H11
		1.25 (m, 1H)	H9, H10a, H11
11	24.2 (d)	1.83 (m, 1H)	H10a, H10b, H12, H13
12	20.7 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	H11
13	23.9 (q)	0.91 (d, 6.8 Hz, 1H)	H11
14	-	8.79 (d, 4.9 Hz, 1H)	H9
Alanina			
15	n.o.	-	-
16	47.3 (d)	4.19 (dq, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H17, H18
17	16.2 (q)	1.33 (d, 7.8 Hz, 3H)	H16
18	-	7.29 (d, 4.9 Hz, 1H)	H16
Lisina			
19	n.o.	-	-
20	54.3 (d)	3.87 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	H21, H26
21	32.1 (t)	1.60 (m, 2H)	H20, H22a, H22b
22	21.1 (t)	1.40 (m, 1H)	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	H21, H22a, H23
23	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	H22a, H22b, H24a, H24b
24	38.1 (t)	2.75 (m, 1H)	H23, H24b, H25
		3.59 (m, 1H)	H23, H24a, H25
25	-	7.41 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	H24a, H24b
26	-	6.39 (d, 6.8 Hz, 1H)	H20
Triptófano			
27	n.o.	-	-
28	53.8 (d)	4.38 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	H29a, H29b, H39
29	27.6 (t)	2.81 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	H28, H29b
		3.37 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	H28, H29a
30	n.o.	-	-
31	124.5 (d)	6.72 (bs, 1H)	H32
32	-	10.80 (bs, 1H)	H31
33	n.o.	-	-
34	111.2(d)	7.37 (d, 7.8 Hz, 1H)	H35
35	120.2 (d)	6.89 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H34, H36
36	121.0 (d)	7.00 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H35, H37
37	117.8 (d)	7.21 (d, 7.8 Hz, 1H)	H36, H35
38	n.o.	-	-
39	-	8.64 (d, 8.8 Hz, 1H)	H28
40	n.o.	-	-
Arginina			
41	-	6.49 (d, 7.8 Hz, 1H)	H42
42	52.2 (d)	4.19 (ddd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H41, H43a, H43b
43	28.0 (t)	1.52 (m, 1H)	H42, H43b, H44
		1.71 (m, 1H)	H42, H43a, H44
44	24.7 (t)	1.40 (m, 2H)	H43a, H43b, H45
45	40.1 (t)	3.07 (dt, 5.9, 5.9 Hz, 2H)	H46, H45
46	-	7.42 (t, 5.9 Hz, 1H)	H45
47	n.o.	-	-
48	n.o.	-	-
48-Me	52.1 (q)	3.58 (s, 3H)	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares 2D

n. o. = no observado

Tabla 5 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC y COSY
Datos NMR para Compuesto 5 en *d*₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, <i>J</i> Hz)	Correlaciones ^{2,3} <i>J</i> _{CH}	COSY
N-Metil leucina				
1	168.9 (s)	-	-	-
2	57.5 (d)	4.76 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	1, 3, 8, 7-NMe	H3a, H3b
3	36.6 (t)	1.27 (m, 1H)	-	H2, H3b, H4
		1.65 (m, 1H)	-	H2, H3a, H4
4	24.4 (d)	1.34 (m, 1H)	-	H3a, H3b, H5, H6
5	23.7 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	21.2 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	27.5 (q)	1.77 (s, 3H)	2, 8	-
leucina				
8	172.6 (s)	-	-	-
9	46.8 (d)	4.77 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	40.0 (t)	1.68 (m, 1H)	9, 11	H9, H10b, H11
		1.22 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	24.5 (d)	1.82 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	21.4 (q)	0.86 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	23.0 (q)	0.90 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.77 (d, 4.9 Hz, 1H)	9, 10, 15	H9
Alanina				
15	173.8 (s)	-	-	-
16	48.2 (d)	4.16 (dq, 4.9, 7.8 Hz, 1H)	15, 17	H17, H18
17	16.8 (q)	1.27 (d, 7.8 Hz, 3H)	15, 16	H16
18	-	7.18 (d, 4.9 Hz, 1H)	19	H16
Lisina				
19	172.3 (s)	-	-	-
20	54.1 (d)	3.91 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22	H21, H26
21	32.1 (t)	1.60 (m, 2H)	-	H20, H22a, H22b
22	20.6 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H21, H22b, H23
		1.10 (m, 1H)	-	H21, H22a, H23
23	27.1 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H22a, H22b, H24a, H24b
24	38.1 (t)	2.76 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25
		3.53 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	-	7.50 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	-	H24a, H24b
26	-	6.36 (d, 6.8 Hz, 1H)	40	H20
Triptófano				
27	173.5 (s)	-	-	-
28	53.8 (d)	4.41 (ddd, 2.9, 9.6, 11.7 Hz, 1H)	-	H29a, H29b, H39
29	27.7 (t)	2.90 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	30, 31, 38	H28, H29b
		3.30 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	30, 31, 38	H28, H29a
30	110.9 (s)	-	-	-
31	124.9 (d)	6.78 (bs, 1H)	29, 30, 33, 38	H32
32	-	11.00 (bs, 1H)	30, 31, 33, 38	H31
33	136.7 (s)	-	-	-
34	111.3 (d)	7.30 (d, 1.8 Hz, 1H)	36, 38	H36
35	125.8 (s)	-	-	-
36	118.7 (d)	6.93 (dd, 7.8, 1.8 Hz, 1H)	38, 34	H34, H37
37	118.3 (d)	7.42 (d, 7.8 Hz, 1H)	35, 33	H36
38	125.5 (s)	-	-	-
39	-	8.64 (d, 9.6 Hz, 1H)	1	H28
40	157.5 (s)	-	-	-

Arginina				
41	-	6.37 (d, 7.8 Hz, 1H)	40	H42
42	52.6 (d)	4.05 (ddd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	43, 44, 48	H41, H43a, H43b
43	29.5 (t)	1.50 (m, 1H)	-	H42, H43b, H44
		1.67 (m, 1H)	-	H42, H43a, H44
44	25.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H43a, H43b, H45
		1.19 (m, 1H)		
45	40.5 (t)	3.06 (m, 2H)	47	H44, H46
46	-	7.50 (m, 1H)	-	H45
47	156.8 (s)	-	-	-
48	174.3 (s)	-	-	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares 2D

Compuesto 6

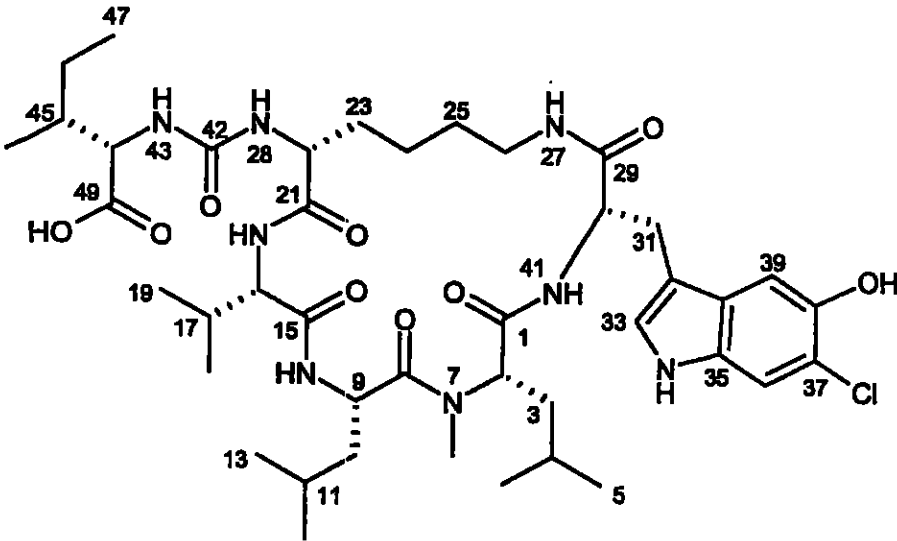


Tabla 6 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC y COSY
Datos NMR para Compuesto 6 in *d*₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, <i>J</i> Hz)	Correlaciones ²³ <i>J</i> _{CH}	COSY
N-Metil leucina				
1	169.4 (s)	-	-	-
2	58.0 (d)	4.72 (dd, 5.9, 8.8 Hz, 1H)	1, 3, 4, 8, 7-NMe	H3a, H3b
3	36.2 (t)	1.25 (m, 1H)	1, 2, 4	H2, H3b, H4
		1.60 (m, 1H)	2, 4	H2, H3a, H4
4	23.0 (d)	1.93 (m, 1H)	2, 3	H3a, H3b, H5, H6
5	23.7 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 6	H4
6	24.0 (q)	0.82 (d, 6.8 Hz, 3H)	3, 4, 5	H4
NMe	27.0 (q)	1.90 (s, 3H)	2, 8	-
leucina				
8	172.5 (s)	-	-	-
9	47.8 (d)	4.70 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H10a, H10b, H14
10	39.2 (t)	1.70 (m, 1H)	-	H9, H10b, H11
		1.22 (m, 1H)	-	H9, H10a, H11
11	27.0 (d)	1.82 (m, 1H)	-	H10a, H10b, H12, H13
12	21.0 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 13	H11
13	24.9 (q)	0.96 (d, 6.8 Hz, 3H)	10, 11, 12	H11
14	-	8.69 (d, 4.9 Hz, 1H)	9, 10, 15	H9
Alanina				



71

15	172.7 (s)	-	-	-
16	57.8 (d)	3.92 (dd, 5.8, 7.8 Hz, 1H)	-	H17, H20
17	29.7 (d)	1.95 (m, 1H)	16, 18, 19	H16, H18, H19
18	19.4 (q)	0.85 (d, 7.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	19.0 (q)	1.05 (d, 7.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	6.80 (d, 5.9 Hz, 1H)	16, 17, 19	H16
Lisina				
21	172.5 (s)	-	-	-
22	54.8 (d)	3.91 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	19, 21, 22, 42	H23, H28
23	31.5 (t)	1.60 (m, 2H)	-	H22, H24a, H24b
24	20.1 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25
		1.10 (m, 1H)	-	H23, H24a, H25
25	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	-	H24a, H24b, H26a, H26b
26	38.1 (t)	2.80 (m, 1H)	27	H25, H26b, H27
		3.61 (m, 1H)	-	H25, H26a, H27
27	-	7.40 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	27	H26a, H26b
28	-	6.47 (d, 5.9 Hz, 1H)	42, 22, 23	H22
Triptotófano				
29	171.6 (s)	-	-	-
30	53.2 (d)	4.41 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	-	H31a, H31b, H41
31	27.9 (t)	2.90 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	29, 33, 32, 30	H30, H31b
		3.40 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	30, 32, 33	H30, H31a
32	109.5 (s)	-	-	-
33	125.5 (d)	6.65 (bs, 1H)	29, 30, 35, 40	H34
34	-	10.64 (bs, 1H)	32, 33, 35, 40	H33
35	130.4 (s)	-	-	-
36	111:1 (d)	7.20 (s, 1H)	33, 37, 38, 40	-
37	115.0 (s)	-	-	-
38	146.3 (s)	-	-	-
39	102.3 (d)	7.00 (s, 1H)	35, 33, 32, 37, 38	-
40	126.0 (s)	-	-	-
41	-	8.77 (d, 3.8 Hz, 1H)	1	H30
42	157.6 (s)	-	-	-
Isoleucina				
43	-	6.35 (d, 7.8 Hz, 1H)	42	H44
44	56.9 (d)	4.06 (dd, 5.9, 7.8 Hz, 1H)	42, 45, 46, 48, 49	H43, H45
45	36.8 (d)	1.70 (m, 1H)	-	H44, H46b, H46a, H48
46	24.7 (t)	1.40 (m, 1H)	44, 47, 48	H46b, H47, H45
		1.15 (m, 1H)	44, 47, 48	H47, H45, H46a
47	11.7 (q)	0.82 (t, 6.8 Hz, 3H)	45, 46	H46a, H46b
48	15.4 (q)	0.84 (d, 6.8 Hz, 3H)	44, 45, 46	H45
49	173.7 (s)	-	-	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares

2D

Compuesto 7

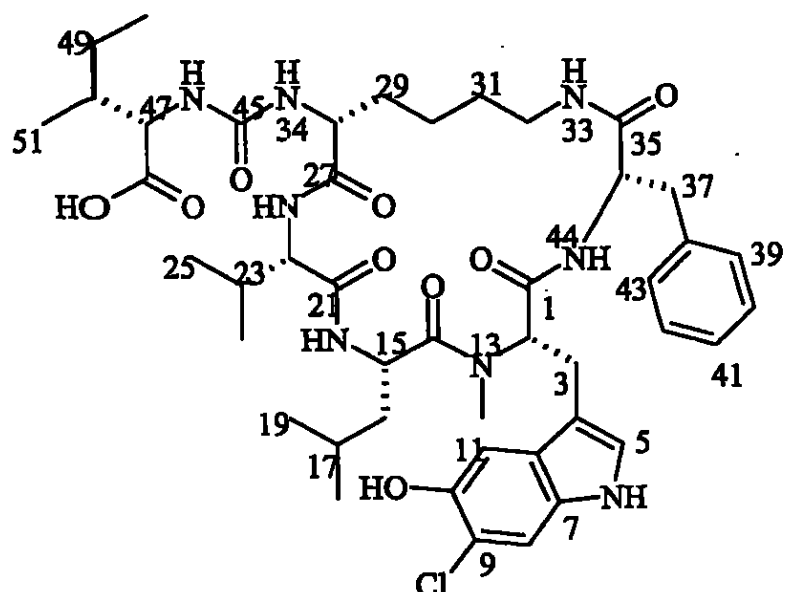


Tabla 7 ^1H (600 MHz), ^{13}C (125 MHz), HMBC y COSY
 Datos NMR para Compuesto 7 en d_6 -DMSO

Átomo No.	^{13}C (mult) ^a	^1H (mult, J Hz)	Correlaciones $^{13}\text{J}_{\text{CH}}$	COSY
N-Metil triptófano				
1	169.8 (s)	-	-	-
2	61.0 (d)	4.66 (dd, 2.6, 10.4 Hz, 1H)	1, 3, 4, 14; 13-NMe	H3a, H3b
3	22.3 (t)	2.73 (m, 1H)	1, 5, 4, 2, 12	H2, H3b
4	108.9 (s)	3.07 (m, 1H)	2, 4, 5, 12	H2, H3a
5	124.3 (d)	-	-	-
6	-	6.87 (bs, 1H)	3, 4, 7, 12	H6
7	130.7 (s)	10.66 (bs, 1H)	4, 5, 7, 12	H5
8	111.8 (d)	-	-	-
9	115.8 (s)	7.26 (s, 1H)	7, 9, 10, 12	-
10	145.8 (s)	-	-	-
11	102.7 (d)	-	-	-
12	126.8 (s)	6.98 (s, 1H)	4, 7, 9, 10, 12	-
NMe	27.5 (q)	-	-	-
leucina				
14	172.5 (s)	1.91 (s, 3H)	2, 14	-
15	46.9 (d)	-	-	-
16	36.9 (t)	4.21 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	16, 21	H16a, H16b, H20
17	24.8 (d)	-0.50 (dd, 11.7, 11.7 Hz, 1H)	14, 17, 18	H15, H16b, H17
18	19.7 (q)	0.90 (m, 1H)	-	H15, H16a, H17
19	22.0 (q)	1.40 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H18, H19
20	-	0.26 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
Valina				
21	172.2 (s)	0.40 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
22	57.6 (d)	8.42 (d, 4.3 Hz, 1H)	15, 16, 21	H15
23	30.0 (d)	-	-	-
24	18.9 (q)	3.79 (dd, 6.9, 7.8 Hz, 1H)	23, 24, 25	H23, H26
25	18.8 (q)	1.90 (m, 1H)	22, 24, 25	H22, H24, H25
26	-	0.86 (d, 7.8 Hz, 3H)	22, 23, 25	H23
Lisina				
27	171.9 (s)	0.93 (d, 7.8 Hz, 3H)	22, 23, 24	H23
28	53.8 (d)	6.74 (d, 6.9 Hz, 1H)	22, 23, 27	H22
29	31.3 (t)	-	-	-
30	20.2 (t)	3.86 (ddd, 5.9, 6.9, 6.8 Hz, 1H)	27, 29, 30, 45	H29, H34

31	28.2 (t)	1.10 (m, 1H) 1.40 (m, 2H)	- -	H29, H30a, H31 H30a, H30b, H32a, H32b
32	37.9 (t)	2.86 (m, 1H) 3.58 (m, 1H)	35 30, 31, 35	H31, H32b, H33 H31, H32a, H33
33	-	7.40 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	32, 35	H32a, H32b
34	-	6.43 (d, 6.9 Hz, 1H)	27, 29, 45	H28
Fenilalanina				
35	171.0 (s)	-	-	-
36	54.8 (d)	4.57 (ddd, 2.9, 9.5, 11.7 Hz, 1H)	1, 35, 37	H37a, H37b, H44
37	37.9 (t)	2.75 (dd, 11.7, 13.7 1H) 3.40 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	35, 36, 38, 39, 43 36, 38, 39, 43	H36, H37b H36, H37a
38	138.6 (s)	-	-	-
39	128.9 (d)	7.07 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 38, 41, 43	H40, H41
40	127.9 (d)	7.22 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	38, 42	H39, H41
41	126.2 (d)	7.15 (t, 7.8 Hz, 1H)	39, 43	H40, H42
42	127.9 (d)	7.22 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	38, 40	H41, H43
43	128.29 (d)	7.07 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 38, 39, 41	H42
44	-	8.76 (d, 9.5 Hz, 1H)	1, 36, 37	H36
45	157.3 (s)	-	-	-
Isoleucina				
46	-	6.28 (d; 8.7 Hz, 1H)	45, 47, 52	H47
47	56.6 (d)	4.04 (dd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	45, 48, 49, 51, 52	H46, H48
48	36.9 (d)	1.71 (m, 1H)	47, 49, 50, 51	H47, H49b, H51
49	24.5 (t)	1.35 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H48, H49b, H50
		1.10 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H48, H49a, H50
50	11.1 (q)	0.83 (t, 6.8 Hz, 3H)	48, 49	H49a, H49b

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares

2D

Compuesto 8

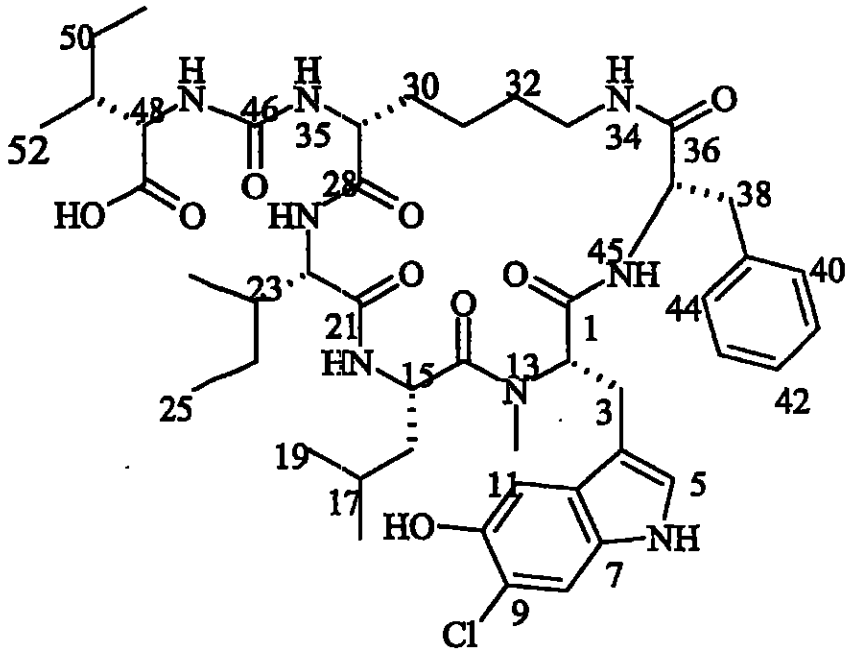


Tabla 8 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz) y COSY
Datos NMR para Compuesto 8 in d₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	COSY
N-Metil triptófano			

1	n.o.	-	-
2	60.8 (d)	4.65 (dd, 2.6, 9.9 Hz, 1H)	H3a, H3b
3	21.9 (t)	2.73 (m, 1H)	H2, H3b
	-	3.08 (m, 1H)	H2, H3a
4	n.o.	-	-
5	124.7 (d)	6.87 (d, 1.9Hz, 1H)	H6
6		10.66 (bs, 1H)	H5
7	n.o.	-	-
8	111.5 (d)	7.23 (s, 1H)	-
9	n.o.	-	-
10	n.o.	-	-
11	103.4 (d)	6.94 (s, 1H)	-
12	n.o.	-	-
NMe	27.4 (q)	1.90 (s, 3H)	-
leucina			
14	n.o.	-	-
15	47.4 (d)	4.18 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	H16a, H16b, H20
16	37.0 (t)	-0.50(dd, 9.8, 9.8Hz, 1H)	H15, H16b, H17
		0.91 (m, 1H)	H15, H16a, H17
17	24.9 (d)	1.40 (m, 1H)	H16a, H16b, H19, H18
18	19.5 (q)	0.22 (d, 6.8 Hz, 3H)	H17
19	22.3 (q)	0.36 (d, 6.8 Hz, 3H)	H17
20	-	8.40 (d, 4.8 Hz, 1H)	H15
Isoleucina			
21	n.o.	-	-
22	55.8 (d)	3.93 (dd, 7.8, 8.2 Hz, 1H)	H23, H27
23	37.0 (d)	1.72 (m, 1H)	H22, H24a, H24b, H26
24	24.2 (t)	1.08 (m, 1H)	H24b, H23, H25
		1.30 (m, 1H)	H24a, H23, H25
25	12.0 (q)	0.82 (d, 7.0 Hz, 3H)	H24a, H24b
26	15.7 (q)	0.83 (d, 7.0 Hz, 3H)	H23
27	-	6.70 (d, 6.9 Hz, 1H)	H22
Lisina			
28	n.o.	-	-
29	54.3 (d)	3.85 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	H30, H35
30	31.8 (t)	1.54 (m, 1H)	H29, H30b, H31a, H31b
		1.72 (m, 1H)	H29, H30a, H31a, H31b
31	24.9 (t)	1.40 (m, 1H)	H32, H31b, H30a, H30b
		1.10(m, 1H)	H32, H31a, H30a, H30b
32	28.1 (t)	1.40 (m, 2H)	H31a, H31b, H33a, H33b
33	38.0 (t)	2.80 (m, 1H)	H32, H33b, H34
		3.55 (m, 1H)	H32, H33a, H34
34	-	7.43 (dd, 1.2, 8.8 Hz, 1H)	H33a, H33b
35	-	6.45 (d, 6.8 Hz, 1H)	H29
Fenilalanina			
36	n.o.	-	-
37	54.5 (d)	4.58 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	H38a, H38b, H45
38	37.4 (t)	2.73 (dd, 11.7, 11.7 Hz, 1H)	H37, H38b
		3.37 (dd, 2.9, 11.7 Hz, 1H)	H37, H38a
39	n.o.	-	-
40	128.3 (d)	7.05 (d, 7.8 Hz, 1H)	H41, H42
41	128.0 (d)	7.19 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H40, H42
42	125.9 (d)	7.14 (t, 7.8 Hz, 1H)	H41, H43
43	128.0 (d)	7.19 (dd, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	H42, H44
44	128.3 (d)	7.05 (d, 7.8 Hz, 1H)	H43, H42
45	-	8.68 (d, 8.8 Hz, 1H)	H37
46	n.o.	-	-
Isoleucina			
47	-	6.29 (d, 8.8 Hz, 1H)	H48
48	56.3 (d)	4.01 (dd, 4.9, 7.8, Hz, 1H)	H47, H49
49	38.3 (d)	1.71 (m, 1H)	H48, H50, H50b, H52
50	22.8 (t)	1.38 (m, H)	H50b, H49, H51
		1.01 (m, 1H)	H50a, H49, H51
51	11.4 (q)	0.79 (t, 6.8 Hz, 3H)	H50a, H50b
52	15.8 (q)	0.79 (d, 6.8 Hz, 3H)	H49
53	n.o.	-	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares

n.o. = no observado

Compuesto 9

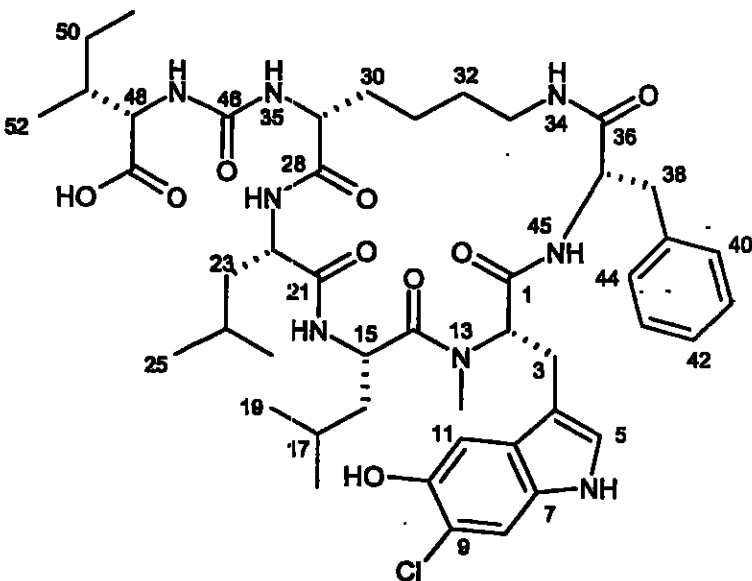


Tabla 9 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC y COSY
Datos NMR para Compuesto 9 en d₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	Correlaciones ^{2,3} J _{CH}	COSY
N-Metil triptófano				
1	169.5 (s)	-	-	-
2	60.8 (d)	4.69 (dd, 2.6, 10.4 Hz, 1H)	1	H3a, H3b
3	21.7 (t)	2.76 (m, 1H)	2, 4, 12	H2, H3b
		3.04 (m, 1H)	2, 4, 12	H2, H3a
4	108.9 (s)	-	-	-
5	124.3 (d)	6.88 (bs; 1H)	4, 7, 12	H6
6		10.66 (bs, 1H)	4, 5, 7, 12	H5
7	130.2 (s)	-	-	-
8	111.8 (d)	7.27 (s, 1H)	9, 10, 12	-
9	115.8 (s)	-	-	-
10	145.8 (s)	-	-	-
11	102.7 (d)	6.99 (s, 1H)	4, 7, 9, 10	-
12	126.1 (s)	-	-	-
NMe	27.4 (q)	1.91 (s, 3H)	2, 14	-
leucina				
14	172.5 (s)	-	-	-
15	46.7 (d)	4.22 (ddd, 2.9, 4.9, 9.8 Hz, 1H)	-	H16a, H16b, H20
16	37.4 (t)	-0.49 (dd, 9.8, 9.8 Hz, 1H)	18	H15, H16b, H17
		0.95 (m, 1H)	-	H15, H16a, H17
17	23.1 (d)	1.40 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H19, H18
18	19.7 (q)	0.25 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	22.3 (q)	0.42 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	8.47 (d, 4.3 Hz, 1H)	21	H15
Leucina				
21	173.5 (s)	-	-	-
22	50.7 (d)	4.03 (td, 7.8, 6.9 Hz, 1H)	21, 23	H23, H27
23	39.7 (d)	1.46 (m, 2H)	-	H22, H24
24	23.3 (q)	1.67 (m, 1H)	15, 16	H23, H25, H26
25	21.6 (q)	0.82 (d, 7.0 Hz, 3H)	23, 24, 26	H24
26	22.8 (q)	0.88 (d, 7.0 Hz, 3H)	23, 24, 25	H24
27	-	6.86 (d, 6.9 Hz, 1H)	28	H22
Lisina				

28	172.2 (s)	-	-	H30, H35
29	54.4 (t)	3.88 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	28, 30, 31	H29, H31a, H31b
30	32.1 (t)	1.54 (m, 2H)	-	H30, H31b, H32
31	20.2 (t)	1.40 (m, 1H)	-	H30, H31a, H32
		1.10 (m, 1H)	-	H30, H22a, H23
32	28.1 (t)	1.42 (m, 2H)	-	H31a, H31b, H33a, H33b
33	38.3 (t)	2.84 (m, 1H)	-	H32, H33b, H34
		3.57 (m, 1H)	-	H32, H33a, H34
34	-	7.38 (dd, 1.2, 7.8 Hz, 1H)	-	H33a, H33b
35	-	6.35 (d, 6.8 Hz, 1H)	46	H29
Fenilalanina				
36	171.4 (s)	-	-	-
37	54.5 (d)	4.52 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	36	H38a, H38b, H45
38	37.9 (t)	2.74 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H)	39, 40, 44	H37, H38b
		3.55 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	28, 27, 30, 31, 38	H27, H38a
39	138.3 (s)	-	-	-
40	128.7 (d)	7.08 (d, 8.0 Hz, 1H)	42, 44	H41, H42
41	129.2 (d)	7.23 (dd, 8.0, 8.0 Hz, 1H)	39, 43	H40, H42
42	126.6 (d)	7.17 (t, 8.0 Hz, 1H)	40, 44	H41, H43, H40, H44
43	129.2 (d)	7.23 (dd, 8.0, 8.0 Hz, 1H)	39, 41	H42, H44
44	128.7 (d)	7.08 (d, 8.0 Hz, 1H)	40, 38, 42	H43, H42
45	-	8.71 (d, 8.8 Hz, 1H)	1	H37
46	157.0 (s)	-	-	-
Isoleucina				
47	-	6.26 (d, 8.7 Hz, 1H)	-	H48
48	56.9 (d)	4.03 (dd, 5.9, 7.8, 7.8 Hz, 1H)	46, 49, 50, 52, 53	H47, H49
49	37.6 (d)	1.70 (m, 1H)	-	H48, H50b, H50a, H52
50	24.6 (t)	1.35 (m, 1H)	48, 49, 51, 52	H49, H50a, H50b, H51
		1.10 (m, 1H)	49, 51, 52	H49, H50a, H50b, H51
51	11.7 (q)	0.86 (t, 6.8 Hz, 3H)	49, 50	H50a, H50b
52	15.8 (q)	0.85 (d, 6.8 Hz, 3H)	48, 49, 50	H49
53	173.8 (s)	-	-	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares 2D

Compuesto 10

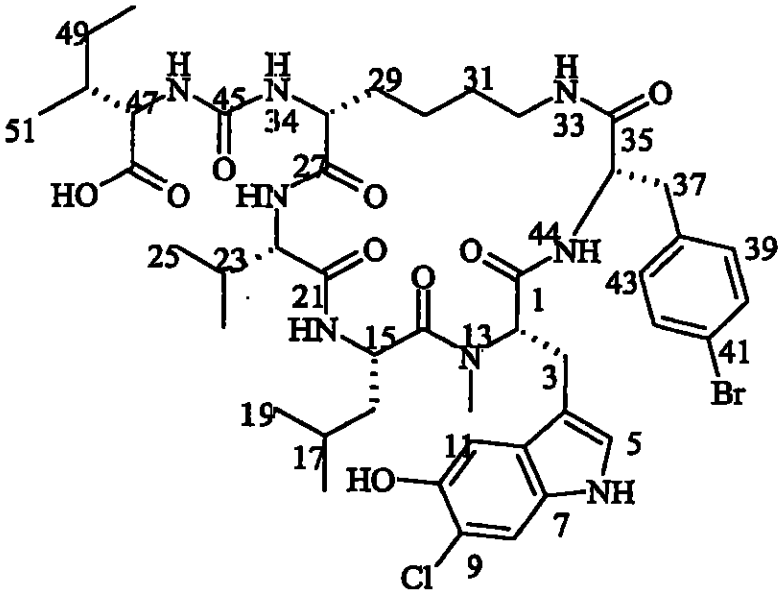


Tabla 10 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC y COSY

Datos NMR para Compuesto 10 en d_6 -DMSO

Átomo No.	^{13}C (mult) ^a	^1H (mult, J Hz)	Correlaciones $^{13}\text{J}_{\text{CH}}$	COSY
N-Metil triptófano				
1	169.8 (s)	-	-	-
2	60.9 (d)	4.66 (dd, 2.9, 10.7 Hz, 1H)	1, 3, 4, 14, 13-NMe	H3a, H3b
3	21.9 (t)	2.77 (m, 1H) 3.07 (m, 1H)	2, 4, 5 2, 4, 5	H2, H3b H2, H3a
4	109.3 (s)	-	-	-
5	126.1 (d)	6.89 (d, 2.0 Hz, 1H)	4, 7, 12	H6
6	-	10.68 (ts, 1H)	4, 5, 7, 12	H5
7	130.5 (s)	-	-	-
8	111.8 (d)	7.26 (s, 1H)	7, 9, 10, 12	-
9	115.8 (s)	-	-	-
10	146.2 (s)	-	-	-
11	103.4 (d)	6.98 (s, 1H)	4, 7, 9	-
12	126.8 (s)	-	-	-
NMe	27.3 (q)	1.97 (s, 3H)	2, 14	-
leucina				
14	171.9 (s)	-	-	-
15	46.8 (d)	4.21 (ddd, 2.9, 4.9, 11.7 Hz, 1H)	-	H16a, H16b, H20
16	37.2 (t)	-0.48 (dd, 11.7, 11.7 Hz, 1H) 0.95 (m, 1H)	- -	H15, H16b, H17 H15, H16a, H17
17	23.3 (d)	1.40 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H19, H18
18	19.5 (q)	0.27 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	21.3 (q)	0.41 (d, 6.8 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	8.42 (d, 4.9 Hz, 1H)	15, 16, 21	H15
Leucina				
21	172.9 (s)	-	-	-
22	57.7 (d)	3.77 (dd, 6.8, 7.8 Hz, 1H)	21, 23, 24, 25	H23, H26
23	29.8 (t)	1.88 (m, 2H)	-	H22, H23, H24
24	18.9 (q)	0.84 (d, 7.0 Hz, 3H)	22, 23, 25	H23
25	18.9 (q)	0.93 (d, 7.0 Hz, 3H)	22, 23, 24	H23
26	-	6.74 (d, 6.9 Hz, 1H)	23, 28	H22
Lisina				
27	172.2 (s)	-	-	-
28	54.5 (d)	3.84 (ddd, 5.9, 6.8, 6.8 Hz, 1H)	20, 28, 29, 45	H29, H34
29	31.5 (t)	1.54 (m, 2H)	-	H28, H30a, H30b
30	20.2 (t)	1.40 (m, 1H) 1.10 (m, 1H)	- -	H29, H30b, H31 H29, H30a, H31
31	28.2 (t)	1.42 (m, 2H)	-	H30a, H30b, H32a, H32b
32	38.3 (t)	2.85 (m, 1H) 3.57 (m, 1H)	- 30, 31	H31, H32b, H33 H31, H32a, H33
33	-	7.46 (dd, 1.2, 7.0 Hz, 1H)	35	H32a, H32b
34	-	6.41 (d, 6.8 Hz, 1H)	29, 28, 45	H28
Fenilalanina				
35	170.4 (s)	-	-	-
36	54.1 (d)	4.52 (ddd, 2.9, 8.8, 11.7 Hz, 1H)	35	H37a, H37b, H44
37	37.2 (t)	2.72 (dd, 11.7, 13.7 Hz, 1H) 3.36 (dd, 2.9, 13.7 Hz, 1H)	36, 38, 39, 43 36, 38, 39, 43	H36, H37b H36, H37a
38	137.9 (s)	-	-	-
39	131.4 (d)	7.01 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 41, 43	H40
40	130.4 (d)	7.37 (d, 7.8 Hz, 1H)	42, 38	H39
41	119.2 (s)	-	-	-
42	130.4 (d)	7.39 (d, 7.8 Hz, 1H)	40, 38	H43
43	131.4 (d)	7.08 (d, 7.8 Hz, 1H)	37, 39, 41	H42
44	-	8.81 (d, 8.8 Hz, 1H)	-	H36
45	157.3 (s)	-	-	-
Isoleucina				
46	-	6.26 (d, 8.8 Hz, 1H)	45, 47	H47
47	57.2 (d)	4.04 (dd, 4.9, 8.8, 7.8 Hz, 1H)	45, 48, 49, 51, 52	H48, H46
48	37.2 (d)	1.70 (m, 1H)	-	H47, H49b, H49a
49	25.1 (t)	1.33 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H49a, H48, H50

50	11.4(q)	1.07 (m, 1H)	47, 48, 50, 51	H49b, H48, H50
51	15.8 (q)	0.83 (t, 6.8 Hz, 3H)	48, 49	H49a, H49b
52	174.5 (s)	0.83 (d, 6.8 Hz, 3H)	47, 48, 49	H48
		-	-	-

^aDesplazamientos químicos determinados de experimentos heteronucleares 2D

EJEMPLO 2

Este Ejemplo describe el aislamiento de Compuesto 11.

Procedimientos Experimentales Generales

Se filtró agua Milli-Q, mientras que todos los demás disolventes utilizados fueron Omnisolv. Se empleó una columna Hypersil BDS básica C18 5uM, 21.2 x 150 mm para HPLC preparativa. Se registraron los espectros NMR en un espectrómetro NMR Varian Inova 600 ó 500 MHz. Se disolvieron muestras en d₆-DMSO y se calcularon los desplazamientos químicos en relación con el pico del disolvente (DMSO ¹H □ 2.50 y ¹³C 39.5 ppm). Se midieron los espectros de masa en una Plataforma II Fisons VG, usando el modo de ionización por electropulverización positiva. El disolvente de elución era una mezcla de acetonitrilo/agua 50% a 0.1 ml/min.

Material Animal

Seis muestras de esponja de *Candidaspongia flabellata* se recogieron por buceo con escafandra en Outer Gneering, Sunshine Coast, Old Reef, isla de Fairfax y Chauvel Reef, Queensland, Australia y muestras certificadas (G315106, G314580, G314025, G315402, G318260, G317513) se depositaron en el Museo de Queensland, Brisbane, Australia.

Extracción y Aislamiento

Se molieron los materiales de esponja, secados por congelamiento, (529 g) y se extrajeron exhaustivamente con metanol para proporcionar seis extractos de metanol. Los extractos crudos de metanol sometieron a una serie de particiones: MeOH/*n*-hexano, H₂O:MeOH(4:1)/DCM, H₂O:MeOH(4:1)/EtOAc. La bioactividad se difundió en las capas H₂O:MeOH (4:1) y EtOAc. Las capas H₂O:MeOH(4:1) y EtOAc se combinaron para todas las seis biota y luego se repartieron en porciones con H₂O/butanol.

La actividad se dio en la capa de butanol (900 mg), la cual se sometió luego a cromatografía de contracorriente {H₂O/MeOH/EtOAc (4:1:5)}, fase móvil de la capa superior. Las muy primeras fracciones eluyentes, 13-24, se combinaron (325 mg) y se dividieron en porciones *n*-hexano:EtOAc:MeOH:H₂O (1:1:1:1). La capa acuosa bioactiva (150 mg) se cromatografió luego aún más mediante cromatografía de contracorriente {(CHCl₃: MeOH:H₂O (7:13:8))}, fase móvil de la capa inferior. Las primeras fracciones activas eluyentes, 25-32, se combinaron para producir 85 mg de material. Éste se sometió a una paso final de purificación por HPLC (Hypersil BDS C18) usando una gradiente de 30 minutos H₂O/MeCN de H₂O (que contenía 1% TFA) a MeCN (que contenía 1% TFA). Esto produjo 0.4 mg de Compuesto 11 eluyendo después de 18.2 minutos.

Compuesto 11: MS: (ESI positiva) [M+H]⁺ *m/z* 1003.0 (100), 1004.4 (72), 1005.4 (75), 1006.3 (32). ¹H y ¹³C NMR (d₆-DMSO): véase Tabla 11.

El Compuesto 11 se identificó igualmente como un péptido cíclico después de estudios detallados, incluidos ¹H, ¹³C, gHSQC, gHMBC, y experimentos gCOSY.

Compuesto 11

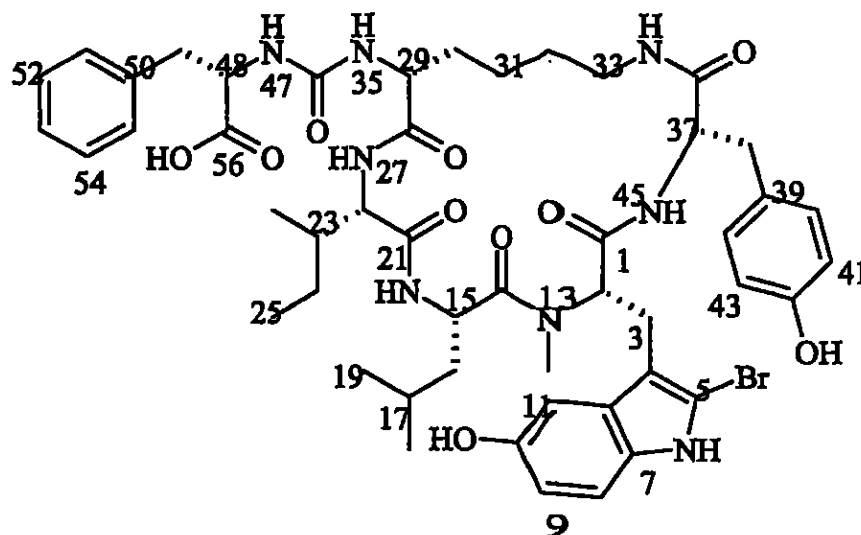


Tabla 11 ¹H (600 MHz), ¹³C (125 MHz), HMBC y COSY
Datos NMR para Compuesto 11 en d₆-DMSO

Átomo No.	¹³ C (mult) ^a	¹ H (mult, J Hz)	Correlaciones ¹³ J _{CH}	COSY
N-Metil tripotófano				
1	n.o.	-	-	-
2	60.0 (d)	4.70 (bd, 10.8 Hz, 1H)	-	H3a, H3b
3	22.4 (t)	2.71 (dd, 14.5, 10.8 Hz, 1H) 3.14 (d, 14.5 Hz, 1H)	-	H2, H3b H3a
4	n.o.	-	-	-
5	108.9 (s)	-	-	-
6	-	11.33 (s, 1H)	4, 7, 12	-
7	130.8 (s)	-	-	-
8	111.0 (d)	7.05 (bd, 8.0 Hz, 1H)	12, 10	H9
9	111.8 (d)	6.60 (bd, 8.0 Hz, 1H)	-	H8
10	150.8 (s)	-	-	-
11	101.8 (d)	6.82 (bs, 1H)	7, 10	-
12	128.1 (s)	-	-	-
NMe	28.5 (q)	2.10 (s, 3H)	2	-
leucina				
14	172.4 (s)	-	-	-
15	46.8 (d)	4.16 (m, 1H)	-	H16a, H16b, H20
16	36.6 (t)	0.32 (bt, 11.0 Hz, 1H) 0.96 (m, 1H)	15	H16b, H17 H15, H16a
17	22.4 (d)	a1.42 (m, 1H)	-	-
18	19.0 (q)	0.22 (d, 6.6 Hz, 3H)	16, 17, 19	H17
19	22.1 (q)	0.41 (d, 6.6 Hz, 3H)	16, 17, 18	H17
20	-	8.38 (d, 4.8 Hz, 1H)	14	H15
Isoleucina				
21	171.6(s)	-	-	-
22	55.7 (d)	3.99 (t, 6.8 Hz, 1H)	23, 26	H23, H27
23	35.7 (d)	1.76 (m, 1H)	21	H22, H24a, H26
24	24.7 (t)	1.10 (m, 1H) *1.44 (m, 1H)	-	H23, H24b, H25 H24a, H25
25	11.2 (q)	0.85 (t, 7.2 Hz, 3H)	23, 24	H24a, H24b
26	14.2 (q)	0.81 (d, 6.6 Hz, 3H)	22	H23
27	-	6.78 (d, 6.8 Hz, 1H)	-	H22
Lisina				
28	172.4(s)	-	-	-
29	54.3 (d)	3.85 (ddd, 7.0, 6.5, 5.0 Hz, 1H)	28	H30a, H30b, H35
30	31.0 (t)	1.52 (m, 1H) 1.60 (m, 1H)	-	H29, H31a H29, H31b
31	20.1 (t)	1.14 (m, 1H) 1.25 (m, 1H)	-	H30a H30b
32	26.6 (t)	1.38 (m, 1H) 1.41 (m, 1H)	-	H33b -
33	37.8 (t)	2.85 (m, 1H) 3.52 (m, 1H)	-	H34 H34, H32a
34	-	7.35 (m, 1H)	-	H33a, H33b
35	-	6.48 (d, 7.0 Hz, 1H)	-	H29
Tirosina				
36	n.o.	-	-	-
37	54.7 (d)	4.50 (ddd, 11.7, 9.0, 4.9 Hz, 1H)	-	H38a, H38b, H45
38	36.5 (t)	2.62 (bt, 13.0 Hz, 1H) *3.23 (m, 1H)	39	H37, H38b H37, H38a
39	130.0 (s)	-	-	-
40	128.5 (d)	6.87 (d, 7.5 Hz, 1H)	38, 39, 42	H41
41	114.8 (d)	6.62 (d, 7.5 Hz, 1H)	40, 42, 44	H40
42	156.0 (s)	-	-	-
43	114.8 (d)	6.62 (d, 7.5 Hz, 1H)	40, 42, 44	H44
44	128.5 (d)	6.87 (d, 7.5 Hz, 1H)	38, 39, 42	H43
45	-	8.54 (d, 9.0 Hz, 1H)	-	H37
46	n.o.	-	-	-
Fenilalanina				
47	-	6.26 (d, 8.0 Hz, 1H)	-	H48
48	53.4 (d)	4.36 (ddd, 8.0, 7.5, 5.2 Hz, 1H)	56, 49	H49a, H49b, H47
49	37.2 (t)	2.86 (dd, 13.8, 7.5 Hz, 1H) 2.99 (dd, 13.8, 5.2 Hz, 1H)	56, 55, 51, 50, 48 56, 55, 51, 50, 48	H48 H48
50	137.5 (s)	-	-	-
51	129.0 (d)	7.16 (d, 7.5 Hz, 1H)	53, 49	H52, H54

52	128.0 (d)	7.27 (t, 7.5 Hz, 1H)	50	H51, H55
53	126.2 (d)	7.20 (t, 7.5 Hz, 1H)	51, 55	-
54	128.0 (d)	7.27 (t, 7.5 Hz, 1H)	50	H51, H55
55	129.0 (d)	7.16 (d, 7.5 Hz, 1H)	53, 49	H52, H54
56	173.8 (s)	-	-	-
OH	-	8.71 (s, 1H)	-	-
OH	-	9.13 (s, 1H)	-	-

^aDesplazamientos químicos calculados a partir de experimentos NMR 2D

n.o. = no observado.

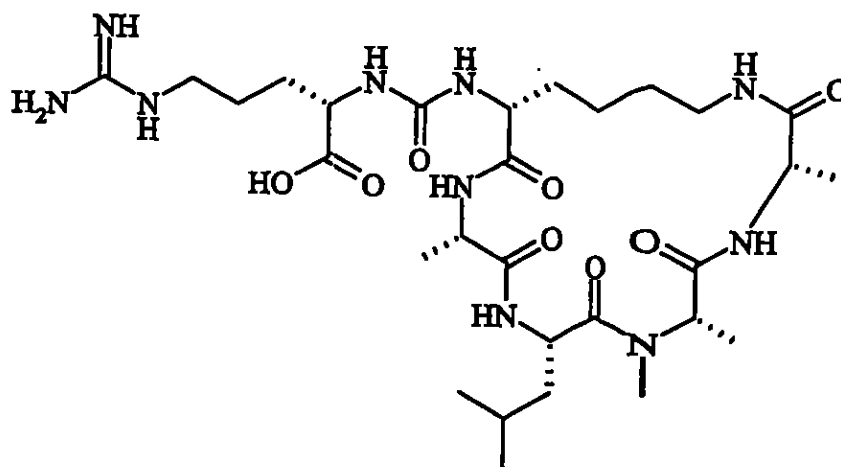
EJEMPLO 3

Este Ejemplo describe la síntesis de Compuesto 12.

Procedimientos Experimentales Generales

Espectros de masa de alta resolución se registraron en un espectrómetro de masa Micromass LCT equipado con una interface de electropulverización (LC-HRMS). Las mediciones ¹H NMR se realizaron en espectrómetros Varian UNITY plus 400, 500 y 600, que operaban con frecuencias ¹H de 400, 500 y 600 MHz respectivamente. Se registraron los espectros NMR en d₆-DMSO con desplazamientos químicos dados en ppm con el disolvente como estándar interno.

Compuesto 12



Síntesis de Compuesto 12

Compuesto 12 se preparó de acuerdo con un procedimiento de la literatura (Marsh and Bradley, *J. Org. Chem.*, 1997, 62, 6199-6203) con las

siguientes modificaciones: Fmoc-L-Arg-N^ω, ω'-(Boc)₂-OH se acopló primeramente a la resina/enlazador. Luego del retiro del grupo Fmoc, la amina libre se acopló con N^α-(4-nitrofeniloxycarbonil)-N^ε-(9-fluorenilmetoxycarbonil)-D-lisina aliléster. Se continuó la síntesis del péptido Fmoc en la cadena lateral del residuo de lisina usando Fmoc-L-Ala seguida por Fmoc-L-N-MeAla, Fmoc-L-Leu y Fmoc-L-Ala. El retiro del aliléster y Fmoc fue seguido por ciclación y, finalmente, segmentación de la resina/enlazador. La purificación del residuo por HPLC de fase reversa (columna Ace C8, gradiente lineal 5%→95% MeCN en 0.1 M de NH₄Oac acuoso) produjo el Compuesto 12 (1.8 mg, 1.3%).

¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO): □ 9.2 (s amplio, 1H), 8.66 (d, 1H), 8.52 (d, 1H), 7.4-8.0 (señal amplia, 4H), 7.47 (dd, 1H), 7.10 (d, 1H), 6.56 (d, 1H), 6.08 (d, 1H), 4.77-4.83 (m, 1H), 4.70-4.77 (m, 1H), 4.23 (qd, 1H), 4.07 (qd, 1H), 3.88-3.98 (m, 1H), 3.65-3.75 (m, 1H), 3.47- 3.52 (m, 1H), 3.03 (t amplio, 2H), 2.71-2. 78 (m, 1H), 2.52 (s, 3H), 1.78-1.84 (m, 1H), 1.68- 1.79 (m, 1H), 1.30-1.65 (m, 12H), 1.15-1.23 (m, 2H), 1.18 (dos d, 6H), 0.94 (d, 3H), 0.93 (d, 3H), 0.89 (d, 3H), 0.88 (d, 3H).

HRMS (ESI) calculado para C₃₂H₅₉N₁₀O₈ 711.4517 (M+H)⁺, hallado 711.4525.

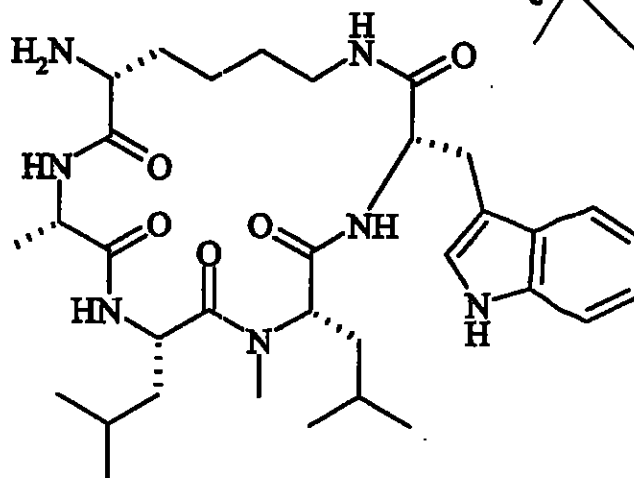
EJEMPLO 4

Este Ejemplo describe la síntesis de Compuestos 1 y 13 a 16.

Síntesis de Compuesto 1

a) Síntesis de Intermedio A

Intermedio A



TFA (2 mL) se agregó a Boc-D-Lys(Fmoc)-OAlil (2.86 g, 5.6 mmol) y se dejó reposar durante 5 minutos. A continuación se retiró el TFA mediante un chorro de nitrógeno seco para proporcionar H-D-Lys(Fmoc)-OAlil, el cual se secó en una línea de alto vacío durante 2 horas para retirar todas las trazas de TFA. Se esponjó previamente la resina de 2-clorotritilo (1 g, 1.4 mmol) en DCM (10 mL) durante 1 hora. Se drenó la resina, y se agregó una solución de H-D-Lys (Fmoc)-OAlil (2.30 g, 5.64 mmol) y DIEA (729 mg, 982 μ L, 5.64 mmol) en DCM (10 mL), y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. Se agregó más DIEA (1.46 g, 1.95 mL, 11.3 mmol) a la resina, y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora más. Se agregó metanol (1 mL) para taponar cualquier resina sin reaccionar, y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora más. Se filtró la resina y se lavó con DMF (2 x 5 mL), DCM (2 x 5 mL) y DMF (2 x 5 mL). La resina se sometió a síntesis de péptido de fase sólida-Fmoc (SPPS) usando las siguientes condiciones:

- (i) **Desprotección Fmoc:** 20% piperidina en DMF (2 x 10 mL) durante 2 minutos seguida por lavado con DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) y DMF (4 x 5 mL).
- (ii) **Condiciones de acoplamiento:** En todos los acoplamientos la solución del reactivo de acoplamiento en DMF se agrega al aminoácido-Fmoc. Esta solución se agrega a la resina seguida por DIEA. (a) Fmoc-Trp (Boc)-OH (2.95 g, 5.6 mmol),

HBTU (0.5 M de solución, 11.2 mL) y DIEA (0.975 mL, 5.6 mmol) 20 minutos. (b) Fmoc-*N*-Me-Leu-OH (2.06 g, 5.6 mmol), HBTU (0.5 M de solución, 11.2 mL) y DIEA (0.975 mL, 5.6 mmol) 20 minutos. (c) Fmoc-Leu-OH (1.98 g, 5.6 mmol), HOBt (756 mg, 5.6 mmol), HATU (2.13 g, 5.6 mmol) y DIEA (314 μ L, 1.8 mmol) en DMF (10 mL) 3 horas. (d) Fmoc-Ala-OH (1.74 g, 5.6 mmol), HBTU (0.5 M de solución, 11.2 mL) y DIEA (0.975 mL, 5.6 mmol) 20 minutos. Luego de todos los acoplamientos, la resina se filtró y lavó con DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) y DMF (4 x 5 mL). Todos los acoplamientos, con excepción de (c), se monitorearon usando la prueba de ninhidrina, el acoplamiento (c) se monitoreó usando una prueba de bromofenol azul. De igual modo, todos los acoplamientos se monitorearon por MS segmentando una pequeña cantidad de resina (5 mg) con 100 % TFA durante 5 minutos. Seguidamente el filtrado de la resina se analizó por MS.

Una solución de Pd(PPh₃)₄ (1.62 g, 1.4 mmol) y dimedona (1.96 g, 14 mmol) en THF:DCM (1:1, 50 mL) se roció con gas nitrógeno durante 10 minutos, se agregó a la resina y la mezcla se agitó durante 16 horas. La mezcla de reacción se filtró y se lavó con DCM (3 x 5 mL), una solución DMF (3 x 5 mL) de 0.5% DIEA y 0.5% de sal de sodio de ácido dietilditiocarbámico en DMF (3 x 5 mL) y DMF (3 x 5 mL). La resina se trató con 20 % piperidina en DMF (2 x 10 mL) durante 2 minutos, seguida por lavado con DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL), 10% clorhidrato de piridinio en DCM: DMF (1:1, 4 x 5 mL) y DMF (4 x 5 mL). Una solución de PyBroP (718 mg, 1.54 mmol) y DIEA (1 mL, 5.74 mmol) en DCM:DMF (1:1, 10 mL) se agregó a la resina y la mezcla se agitó durante 3 horas, tras lo cual una prueba de ninhidrina fue negativa. El péptido cíclico se segmentó de la resina mediante tratamiento con 50% TFA en DCM (20 mL) durante 1 hora. Se filtró la resina, se lavó con TFA (2 x 5 mL) y DCM (2 x

5 mL), se concentró a sequedad, se re-disolvió en MeCN:H₂O (0.1% TFA) y se liofilizó para producir el Intermedio A crudo (435 mg, 50% basado en la resina de 2-clorotritilo). La purificación por RPHPLC (95:5 H₂O (1% TFA):MeCN (1% TFA) a 2:3 H₂O (1% TFA): MeCN (1% TFA)) durante 60 minutos produjo el Intermedio A (0.417 g, 3.6 %).

b) Alil-*N*²-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*⁵-{imino[(2,2,4,6,7-pentametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-il)amino]metil}ornitinato

*N*²-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*⁵-{imino[(2,2,4,6,7-pentametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-il)amino]metil}ornitina (1.0g, 1.54 mmol) se disolvió en DMF (5mL). Se agregó carbonato de cesio (377 mg, 1.16 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. A continuación se agregó bromuro de alilo (0.913 mL, 10.8 mmol) y se continuó la agitación durante 1 hora más, resultando en una solución blanca lechosa. Se agregó agua (25 mL) y se acidificó la mezcla de reacción con 2M KHSO₄. Se agregó DCM (50 mL), y se separaron las fases. La fase acuosa se lavó con DCM (2 x 50 mL), y los orgánicos combinados se lavaron con salmuera (50 mL), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a sequedad para producir alil-*N*²-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*N*⁵-{imino[(2,2,4,6,7-pentametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-il)amino]metil}ornitinato como una espuma incolora (857 mg, 81%).

¹HNMR (CDCl₃, 500 MHz): □ 1.43 (s, 6H), 1.59 (m, 2H), 1.73 (m, 1H), 1.86 (m, 1H), 2.09 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.61 (s, 3H), 2.91 (s, 2H), 3.22 (m, 2H), 4.17 (t, *J* 7 Hz, 1H), 4.32 (m, 1H), 4.37 (m, 1H), 4.59 (br d, *J* 4.5 Hz, 2H), 5.21 (d, *J* 10.5 Hz, 1H), 5.30 (d, *J* 17 Hz, 1H), 5.83 (m, 1H), 5.88 (m, 1H), 6.26 (br s, 1H), 6.35 (br s, 2H), 7.26 (t, *J* 7.5 Hz, 2H), 7.37 (t, *J* 7.5 Hz, 2H), 7.57 (m, 2H), 7.74 (d, *J* 7.5 Hz, 2H).

¹³CNMR (CDCl₃, 125 MHz): □ 12.68, 18.22, 19.54, 25.69, 28.78, 29.93, 40.96, 43.43, 47.36, 53.72, 54.10, 66.23, 67.39, 86.63, 117.78, 119.12, 120.19, 124.93, 125.40, 127.34, 127.96, 131.79, 132.47, 133.17, 138.54, 141.49, 143.97, 144.08, 156.63, 159.03, 171.42). MS: (ESI positiva) [M+H]⁺ *m/z* 689.

86

c) Alil- N^5 -[[4-etil-2,2,6,7-tetrametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-il)amino](imino)metil]- N^2 -[(4-nitrofenoxi)carbonil]ornitinato

Alil- N^2 -[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]- N^5 -{imino[(2,2,4,6,7-pentametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-il)amino]metil}ornitinato (800 mg, 1.16 mmol) se disolvió en DMF (4mL). Se agregó piperidina (1 mL), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura de la sala durante 30 minutos y luego se concentró. El residuo resultante se disolvió en DCM (9 mL) y se agregó a una suspensión de 4-nitrofenilcloroformiato (370 mg, 1.85 mmol) y piridina (750 μ L, 9.3 μ mol) en DCM (6 mL) enfriando en un baño de sal-hielo. Luego de agitar durante 2.5 h, se agregó 1M de KHSO_4 (20mL), se separó la fase orgánica y la fase acuosa se extrajo con DCM (4 x 20 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4), se filtraron, se concentraron, y el residuo resultante se purificó por cromatografía de destello en gel de sílice (100% hexano a 7:3 EtOAc:hexano) para producir alil- N^5 -[[4-etil-2,2,6,7-tetrametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-il)amino](imino)metil]- N^2 -[(4-nitrofenoxi)carbonil]ornitinato (138 mg, 18 %).

^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz): $\square$ 1.42 (s, 6H), 1.62 (m, 2H), 1.79 (m, 1H), 1.89 (m, 1H), 2.04 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 2.55 (s, 3H), 2.90 (s, 2H), 3.20 (m, 2H), 4.30 (m, 1H), 4.60 (br d, J 4.5 Hz, 2H), 5.22 (d, J 10.5 Hz, 1H), 5.29 (d, J 17 Hz, 1H), 5.86 (m, 1H), 6.25 (br s, 1H), 6.33 (br s, 1H), 6.50 (br d, J 6.5 Hz, 1H), 6.90 (d, J 7.5 Hz, 1H), 7.25 (d, J 8 Hz, 2H), 8.05 (d, J 7.5 Hz, 1H), 8.15 (d, J 8 Hz, 2H).

^{13}C NMR (CDCl_3 , 125 MHz): $\square$ 12.63, 18.16, 19.45, 25.74, 28.76, 29.44, 40.8, 43.41, 54.41, 66.39, 86.71, 115.99, 117.78, 119.21, 122.22, 124.97, 125.23, 126.22, 131.66, 132.40, 133.02, 138.43, 140.75, 144.97, 153.45, 156.06, 156.67, 159.04, 163.07, 163.80, 171.6.

MS: (ESI positiva) $[\text{M}+\text{H}]^+$ m/z 632.

d) Compuesto 1

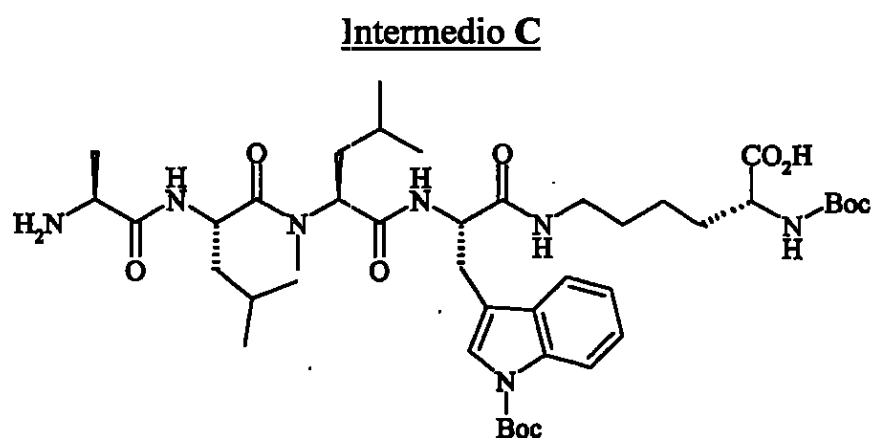
Intermedio A (49.9 mg, 0.08 mmol) se disolvió en DMF (8mL). Se agregó alil- N^5 -[[4-etil-2,2,6,7-tetrametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-il)amino](imino)metil]- N^2 -[(4-nitrofenoxi)carbonil]ornitinato (60.6 mg,

0.096 mmol), seguido por DIEA (17 μ L, 0.096 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura de la sala durante 16 horas. La mezcla de reacción se concentró para producir la urea cruda. Una solución de (tetrakis)trifenilfosfina de paladio (8 mg, 0.0072 mmol) y dimedona (25 mg, 0.18 mmol) en THF: DCM (1:1, 5 mL) se roció con nitrógeno seco y se agregó mediante una cánula a la urea y se agitó a temperatura de la sala de un día para otro para proporcionar el ácido carboxílico crudo. El ácido carboxílico se disolvió en DCM (1 mL), y se agregaron *p*-Cresol (340 μ L) y TFA (250 μ L), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura de la sala durante 20 horas para proporcionar Compuesto 1 crudo. La mezcla de reacción se purificó por HPLC de fase reversa (columna semi prep básica YMC, gradiente lineal 65% agua (1% TFA) 35% MeCN (1%TFA) $\rightarrow$ 100% MeCN (1% TFA)) para proporcionar Compuesto 1 (11.3 mg, 17%). Se encontró que los datos NMR y MS eran idénticos a una muestra auténtica.

Síntesis Alternativa de Compuesto 1

El Intermedio de fórmula A se preparó igualmente por la siguiente vía.

a) Síntesis de Intermedio C



Resina de 2-clorotritilo (300 mg, 0.42 mmol) se esponjó previamente en DCM (2 mL) durante 1 hora. Se drenó la resina y se agregó una solución de Boc-D-lisina (Fmoc)-OH (394 mg, 0.84 mmol) y DIEA (0.586 mL, 3.36 mmol) en DCM (2 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. Seguidamente se agregó una alícuota más de DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol)

y la resina se agitó durante 1 hora más. Se agregó metanol (1 mL) para taponar cualquier resina sin reaccionar y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora más. Se filtró la resina y se lavó con DMF (2 x 5 mL), DCM (2 x 5 mL) y DMF (2 x 5 mL). En seguida la resina se sometió a síntesis de péptido de fase sólida Fmoc (SPPS) usando las siguientes condiciones:

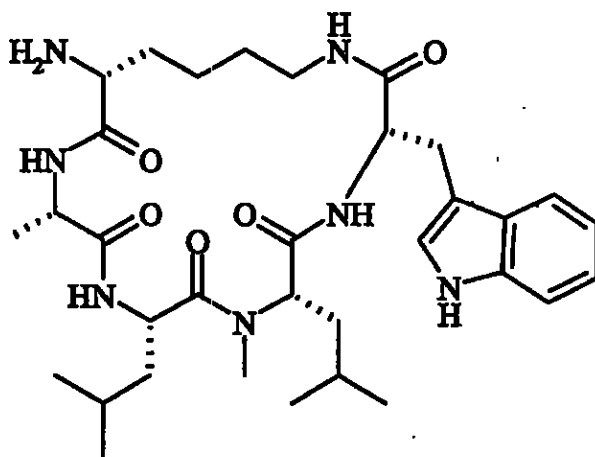
- (iii) **Desprotección Fmoc:** 20 % de piperidina en DMF (4 mL) durante 20 minutos seguida por lavado con DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) y DMF (4 x 5 mL).
- (iv) **Condiciones de acoplamiento:** En todos los acoplamientos se agrega una solución del reactivo de acoplamiento al aminoácido-Fmoc. Esta solución se agrega a la resina seguida por DIEA. (a) Fmoc-Trp (Boc)-OH (0.885 g, 1.68 mmol), HBTU (0.5 M de solución, 3.36 mL) y DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 1 h. (b) Fmoc-N-Me-Leu-OH (0.617 g, 1.68 mmol), HBTU (0.5 M de solución, 3.36 mL) y DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 1 hora. (c) Fmoc-Leu-OH (0.594 g, 1.68 mmol), HATU (0.5M, 0.639 g, 1.68 mmol en 3.36 mL DMF) y DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 2 horas. (d) Fmoc-Ala-OH (0.523 g, 1.68 mmol), HBTU (0.5 M de solución, 3.36 mL) y DIEA (0.293 mL, 1.68 mmol) 1 hora. Luego de todos los acoplamientos la resina se filtró y se lavó con DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) y DMF (4 x 5 mL). Todos los acoplamientos, con excepción de (c) se monitorearon usando la prueba de ninhidrina; el acoplamiento (c) se monitoreó usando una prueba de bromofenol azul.

Luego de la desprotección de Fmoc y un lavado concienzudo con DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) y DMF (4 x 5 mL), se segmentó el péptido lineal de la resina con 2% TFA en DCM (150 mL) mediante un lavado de flujo rápido en 250 mL de agua. El DCM se retiró *in vacuo* y la solución resultante se congeló y se secó por congelamiento. La goma resultante se re-suspendió en 1:1 MeCN:H₂O (100 mL), se congeló y se secó por

congelamiento para producir el Intermedio C crudo (265 mg, 0.276 mmol, 65.9% basado en la resina de 2-clorotritilo).

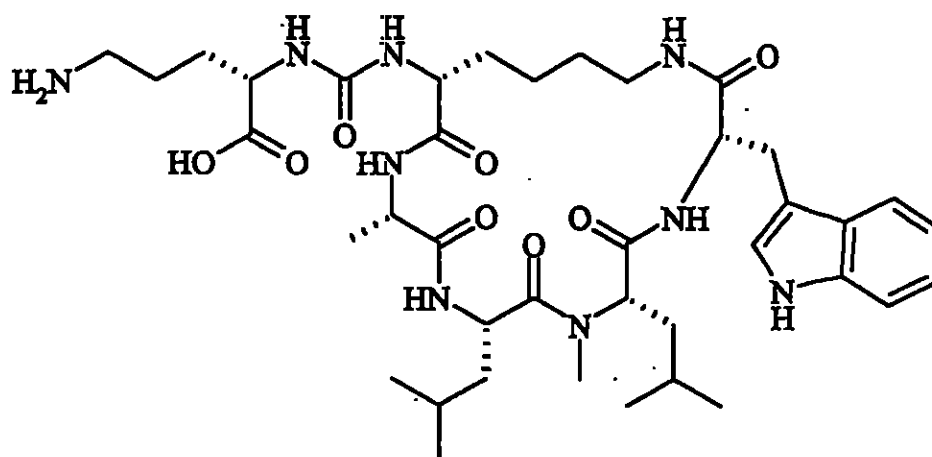
b) Síntesis de Intermedio A

Intermedio A



Intermedio C crudo (0.401 g, 0.419 mmol) y DIEA (0.438 mL, 1.26 mmol) en DMF (208 mL) se agregaron gota a gota con agitación a una solución de PyBOP (1.09 g, 2.10 mmol) y DIEA (0.146 mL, 0.838 mmol) en DMF (208mL). La solución resultante se agitó a temperatura de la sala durante 18 horas, luego se concentró a sequedad y se repartió en porciones entre EtOAc (100 mL) y agua (100 mL). La fase orgánica se lavó varias veces con agua (3 x 100 mL), se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a sequedad. El producto crudo se trató con una solución de 90:9:1 (TFA:TIS_[b1]:DCM) durante 2 horas, se concentró a sequedad y se purificó usando HPLC de fase reversa (95:5 H₂O (1% TFA):MeCN (1%TFA) a 3:2 H₂O (1%TFA):MeCN (1%TFA) durante 60 minutos para proporcionar Intermedio A (0.167 g, 0.226 mmol, 53.9%).

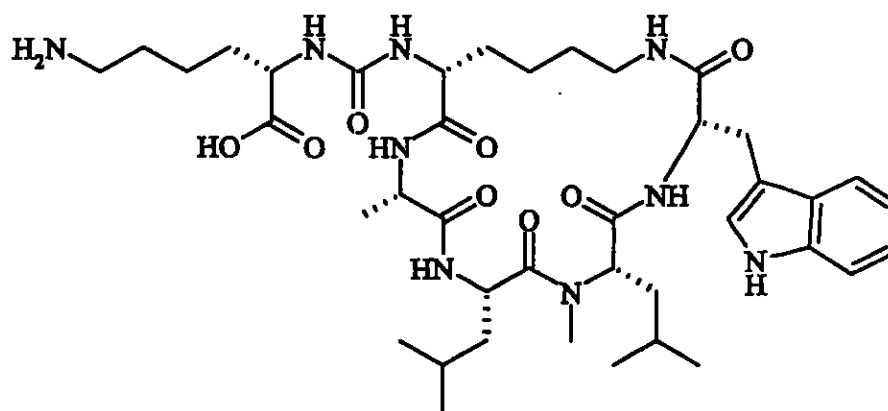
Compuesto 13



Síntesis de Compuesto 13

Compuesto 13 se sintetizó usando un procedimiento similar al procedimiento para Compuesto 1, partiendo del Intermedio A y N^2 -[(benciloxi)carbonil]- N^5 -(*terc*-butoxicarbonil)ornitina. HRMS $C_{39}H_{61}N_9O_8$ 822.4280 ($M+H$)⁺, hallado 822.4262.

Compuesto 14



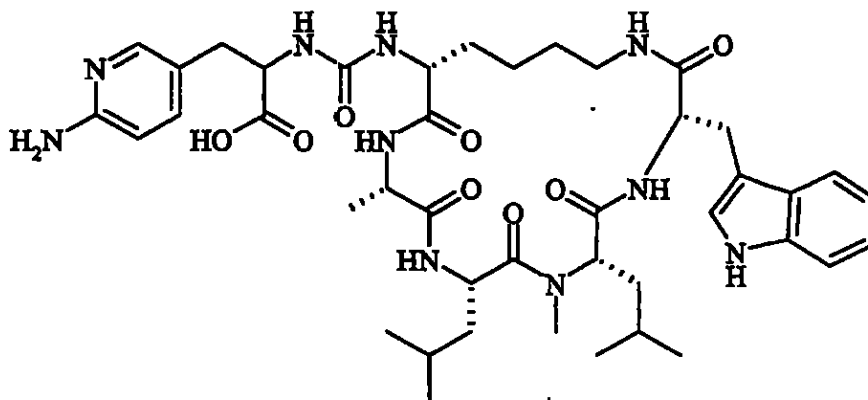
Síntesis de Compuesto 14

Compuesto 14 se sintetizó usando un procedimiento similar al procedimiento para Compuesto 1, partiendo de Intermedio A y *terc*-butil N^6 -(*terc*-butoxicarbonil)-1-lisinato.

^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): $\square$ 8.98 (d, 1H), 8.71 (d, 1H), 7.95 (dd, 1H), 7.79 (d, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.31 (d, 1H), 7.08 (t, 1H), 7.01 (t, 1H), 6.78 (s, 1H), 5.00-4.88 (m, 2H), 4.78-4.70 (m, 1H), 4.36-4.23 (m, 2H), 4.19-4.13 (m, 1H), 3.88-3.77 (m, 1H), 3.55 (dd, 1H), 3.04-2.86 (m, 4H), 2.03-1.88 (m, 3H), 1.85 (s, 3H), 1.84-1.66 (m, 6H), 1.66-1.57 (m, 3H), 1.52 (d, 3H), 1.56-

1.44 (m, 3H), 1.42-1.30 (m, 3H), 1.04 (dos d, 6H), 0.95 (dos d, 6H). HRMS (ESI) calculado para $C_{40}H_{64}N_9O_8$ 798.4878 ($M+H$)⁺, hallado 798.4858.

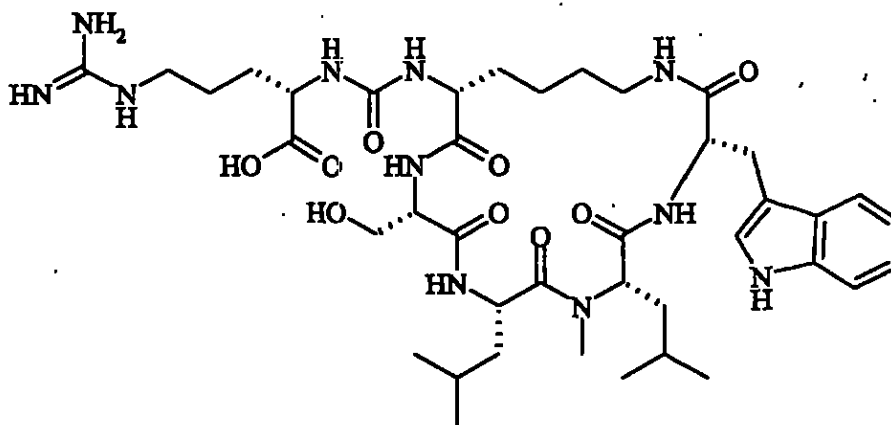
Compuesto 15



Síntesis de Compuesto 15

Compuesto 15 se sintetizó usando un procedimiento similar al procedimiento para Compuesto 1, partiendo de Intermedio A y 3-{6-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]piridin-3-il}alanina (WO01/02364). HRMS $C_{42}H_{61}N_{10}O_8$ 833.4674 ($M+H$)⁺, hallado 833.4678.

Compuesto 16



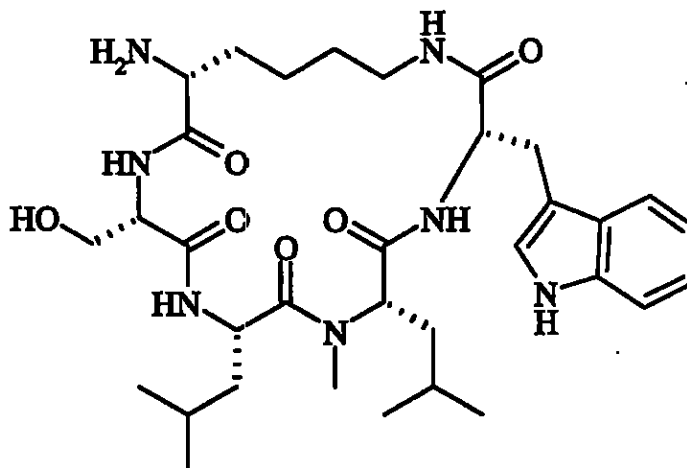
Síntesis de Compuesto 16

a) Síntesis de Intermedio B

92

Intermedio B se sintetizó usando un procedimiento similar al procedimiento para Intermedio A.

Intermedio B



b) Síntesis de Compuesto 16

Compuesto 16 se sintetizó usando un procedimiento similar al procedimiento para Compuesto 1, partiendo de Intermedio B.

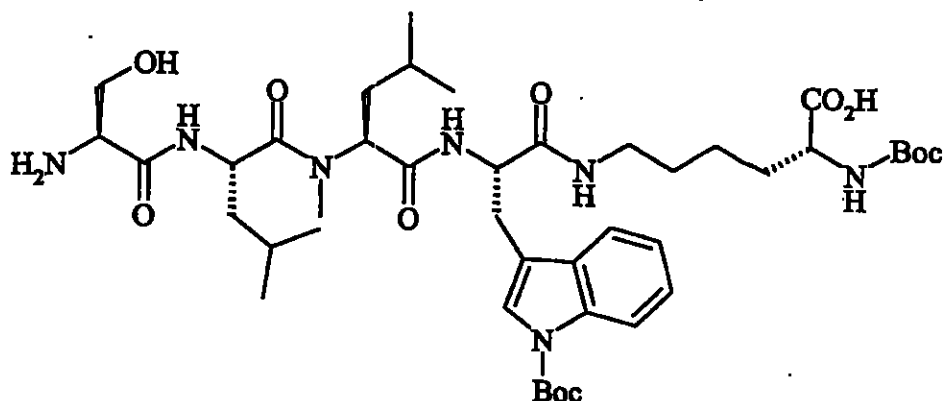
¹H NMR (500 MHz, d₆-DMSO): □ 12.70 (s amplio, 1H), 10.83 (s, 1H), 8.86 (d, 1H), 8.47 (d, 1H), 7.70-7.79 (m, 3H), 7.57 (t, 1H), 7.46 (d, 1H), 7.45 (dd, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.28 (d, 1H), 7.02 (dd, 1H), 6.96 (dd, 1H), 6.81 (broad s, 1H), 6.47 (d, 1H), 6.46 (d, 1H), 4.82 (m, 1H), 4.74-4.75 (ddd, 1H), 4.43 (ddd, 1H), 4.22-4.24 (m, 1H), 4.13 (ddd, 1H), 4.02 (ddd, 1H), 3.78 (dd, 1H), 3.71 (dd, 1H), 3.60 (m, 1H), 3.35 (m, 1H), 3.11 (dt, 2H), 2.86-2.92 (m, 1H), 2.78-2.80 (m, 1H), 1.83 (s, 3H), 1.79-1.83 (m, 1H), 1.52-1.56 (m, 1H), 1.57-1.60 (m, 1H), 1.60-1.64 (m, 3H), 1.69-1.70 (m, 1H), 1.42-1.48 (m, 5H), 1.33-1.36 (m, 1H), 1.22-1.25 (m, 2H), 1.18-1.20 (m, 1H), 0.95 (d, 3H), 0.91 (d, 3H), 0.89 (d, 3H), 0.85 (d, 3H). HRMS C₄₀H₆₄N₁₁O₉ 842.4888 (M+H)⁺, hallado 842.4885.

Síntesis Alternativa de Compuesto 16

El Intermedio de fórmula B se preparó igualmente por la siguiente vía.

Síntesis de Intermedio D:_[b2]

Intermedio D



Resina de 2-clorotritilo (1 g, 1.4 mmol) se esponjó previamente en DCM (5mL) durante 1 hora. La resina se drenó, y se agregó una solución de Boc-D-lisina (Fmoc)-OH (1.31 g, 2.8mmol) y DIEA (1.45 g, 1.98 mL, 11.2 mmol) en DCM (4mL), y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. Se agregó metanol (1 mL) para taponar cualquier resina sin reaccionar, y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora más. La resina se filtró y se lavó con DMF (2 x 5 mL), DCM (2 x 5 mL) y DMF (2 x 5 mL). A continuación, la resina se sometió a síntesis de péptido de fase sólida-Fmoc (SPPS) usando las siguientes condiciones:

- (i) **Desprotección Fmoc:** 20 % de piperidina en DMF (4 mL) durante 20 minutos seguida por lavado con DMF (4 x 5 mL), DCM (4 x 5 mL) y DMF (4 x 5mL).
- (ii) **Condiciones de acoplamiento:** En todos los acoplamientos la solución del reactivo de acoplamiento en DMF se agrega al aminoácido-Fmoc. Esta solución se agrega a la resina seguida por DIEA. (a) Fmoc-Trp (Boc)-OH (0.912 g, 1.732mmol), HBTU (0.5 M de solución, 3.46 mL) y DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 1 hora. (b) Fmoc-N-Me-Leu-OH (0.637 g, 1.732 mmol), HBTU (0.5 M de solución, 3.46 mL) y DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 1 hora. (c) Fmoc-Leu-OH (0.612 g, 1.732 mmol), HATU (0.5M, 0.658 g, 1.732 mmol en 3.5 mL DMF) y DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 2 horas. (d) Fmoc-Ser(tBu)-OH (0.664 g, 1.732 mmol), HBTU (0.5 M de solución, 3.46mL) y DIEA (0.301 mL, 1.732 mmol) 1 hora. Luego de todos los acoplamientos la resina se filtró y se lavó con DMF (4 x 5 ml),

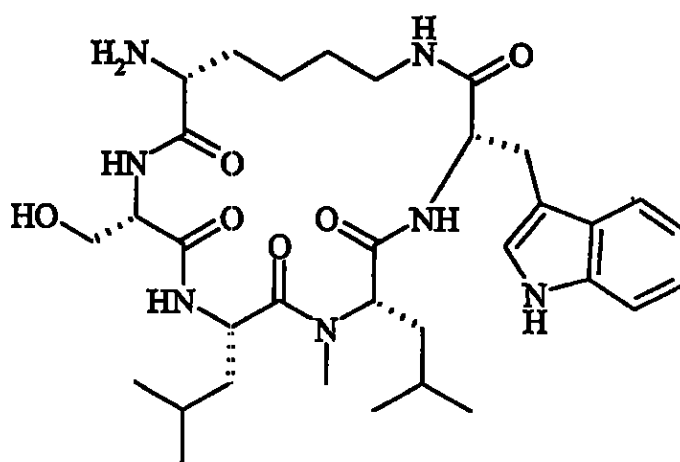
94

DCM (4 x 5mL) y DMF (4 x 5mL). Todos los acoplamientos con excepción de (c) se monitorearon usando la prueba de ninhidrina; el acoplamiento (c) se monitoreó usando una prueba de bromofenol azul.

Luego de las desprotección Fmoc y un lavado concienzudo con DMF (4 x 5 ml), DCM (4 x 5 mL) y DMF (4 x 5mL), el péptido lineal se segmentó de la resina con 2% TFA en DCM (400 mL) mediante lavado de flujo rápido en 500 mL de agua. El DCM se retiró *in vacuo* y la solución resultante se congeló y se secó por congelamiento. La goma resultante se re-suspendió en 1:1 MeCN:H₂O (100mL), se congeló y se secó por congelamiento para proporcionar un Intermedio D crudo (994.6 mg, 0.88 mmol, 63% basado en la resina de 2-clorotritilo).

Síntesis de Intermedio B:

Intermedio B



Intermedio D crudo (905 mg, 0.88 mmol) y DIEA (0.304 mL, 1.74 mmol) se disolvieron en DMF (440mL) y se agregaron gota a gota con agitación a una solución de PyBOP (2.13 g, 4.1 mmol) y DIEA (0.918 mL, 5.3 mmol) en DMF (440 mL). Una vez concluida la adición, la solución resultante se agitó a temperatura de la sala durante 20 horas, luego se concentró a sequedad para producir una goma anaranjada, la cual se purificó usando Sephadex LH-20 (MeOH) para producir el péptido cíclico protegido (551 mg, 70%). El péptido cíclico protegido se trató entonces con una solución de 95:2.5:2.5 (TFA:TIS:DCM) durante 20 horas. La mezcla de reacción se

as

concentró a sequedad y se purificó usando HPLC de fase reversa (95:5 H₂O (1%TFA): MeCN (1% TFA) a 3:2 H₂O (1%TFA):MeCN (1% TFA) durante 60 minutos para proporcionar Intermedio B (214 mg, 32% de Intermedio D).

EJEMPLO 5

Las actividades de ciertos Ejemplos en el análisis descrito en: Dirk Hendriks, Simon Schare and Marc van Sande, Clinical Chemistry, 31, 1936-1939 (1985), usando una concentración de sustrato de 4 mM, se presentan en la siguiente Tabla I.

TABLA I

Compuesto No.	IC ₅₀
2	0.1 µM
8	2.5 µM
12	0.2 µM

Abreviaturas

- EtOAc = acetato de etilo
- FA = ácido trifluoroacético
- DCCC = cromatografía de contracorriente de gotículas
- DCM= diclorometano
- MeOH = metanol
- MeCN = acetonitrilo
- Leu = leucina
- Ala = alanina
- DMSO = sulfóxido de dimetilo
- Arg = arginina
- Trp = triptófano
- TIS = triisopropilsilano
- HPLC = cromatografía de líquidos a alta presión
- RPHPLC = cromatografía de líquidos a alta presión de fase reversa
- Boc = *tert*-butoxicarbonilo
- Fmoc = (9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo
- gHMBC = correlación de enlace multiple heteronuclear de gradiente

gCOSY = espectroscopía correlacionada de gradiente

gHSQC = coherencia de quantum único heteronuclear de gradiente

CPC = cromatografía de partición centrífuga

DIEA = diisopropil etilamina

HATU= hexafluorofosfato de *O*-(7-Azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio

HBTU = hexafluorofosfato de *O*-Benzotriazol-1-il-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio

THF = tetrahidrofurano

DMF =*N,N*-dimetilformamida

Lys = lisina

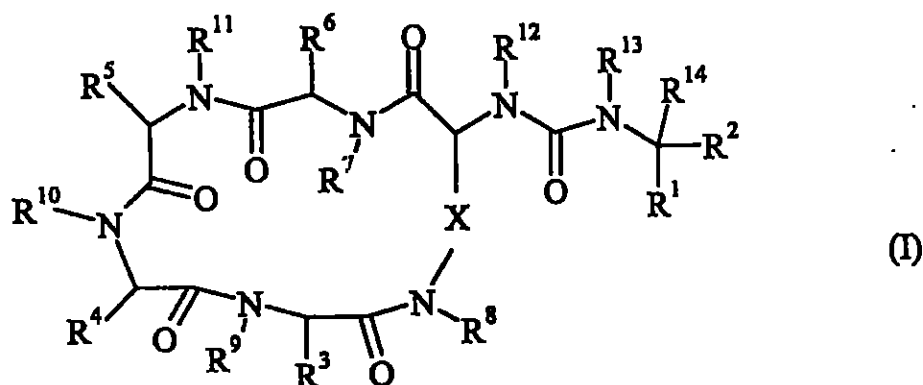
PyBOP= hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio

PyBrOP= hexafluorofosfato de bromo-tripirrolidinofosfonio

TIPS= triisopropilsilano

REIVINDICACIONES

1. El uso de un compuesto de fórmula (I):



en donde:

X es $(CH_2)_m Y (CH_2)_n$;

m y n son, independientemente, 1, 2, 3, 4, 5 ó 6; con la salvedad que $m + n$ no sea superior a 6;

Y es un enlace, O, S (O)_p, o S-S;

R¹ es CO₂R¹⁵ o un isótero de ácido carboxílico tal como S(O)₂OH, S(O)₂NHR¹⁵, PO(OR¹⁵)OH, PO(OR¹⁵)NH₂, B(OR¹⁵)₂, PO(R¹⁵)OH, PO(R¹⁵)NH₂ o tetrazol; R², R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son, independientemente, hidrógeno, C₁₋₆ alquilo (sustituido opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, SH, S(O)₃H, S(O)_q(C₁₋₆ alquilo), OC(O)(C₁₋₄alquilo), CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, COOH, CONH₂, CONH (C₁₋₆ alquilo), NH₂, CNH(NH₂), o NHCNH(NH₂)), C₃₋₆ cicloalquil(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo cicloalquilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂)), heterociclil(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo heterociclilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂)), fenil(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo fenilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) ó NHCNH(NH₂)) o heteroaril(C₁₋₄)alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye

opcionalmente por halógeno, hidróxi, ciano, C₁₋₄ alquilo, CF₃, C₁₋₄ alcoxi, OCF₃, NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂));

p y q son, independientemente, 0, 1 ó 2;

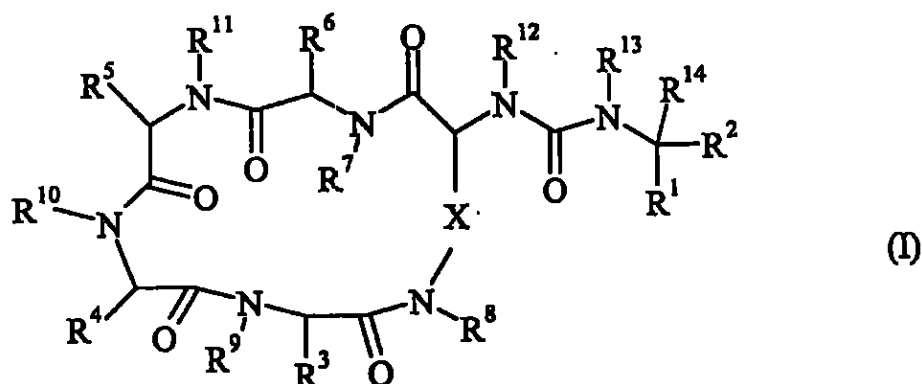
R⁷, R⁸, R⁹, R¹⁰, R¹¹, R¹² y R¹³ son, independientemente, H o C₁₋₄ alquilo;

R¹⁴ es H o C₁₋₄ alquilo; y,

R¹⁵ es H o C₁₋₄ alquilo;

o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal; en un método de fabricar un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad es donde la inhibición de carboxipeptidasa U es benéfica.

2. Un compuesto de fórmula (I):



en donde:

X es (CH₂)₄;

R¹ es CO₂R¹⁵;

R² es un C₁₋₆ alquilo de cadena recta sustituido en su terminal por NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); C₃₋₆ cicloalquilo sustituido por NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); heterociclilo que contiene por lo menos un átomo de nitrógeno; heterociclilo que contiene no nitrógeno sustituido con NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); heteroarilo sustituido con NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); fenilo sustituido con NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); heteroaril(C₁₋₄)alquilo sustituido con NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); fenil(C₁₋₄)alquilo sustituido con NH₂, CNH(NH₂) o NHCNH(NH₂); o C₃₋₆ cicloalquil(C₁₋₄)alquilo

99

sustituido con NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ o $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$; sustituyéndose la totalidad de los anillos anteriores, de manera opcional, por uno o más de: halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi u OCF_3 ; uno de R^3 , R^4 , R^5 y R^6 es independientemente, hidrógeno, heteroaril(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ o $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$); y los otros son, independientemente, hidrógeno, C_{1-6} alquilo (sustituido opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, SH , $\text{S}(\text{O})_3\text{H}$, $\text{S}(\text{O})_q(\text{C}_{1-6}\text{alquilo})$, $\text{OC}(\text{O})(\text{C}_{1-4}\text{alquilo})$, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , COOH , CONH_2 , $\text{CONH}(\text{C}_{1-6}\text{alquilo})$, NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$, o $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), C_{3-6} cicloalquil(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo cicloalquilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ o $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), heterociclil(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo heterociclilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ o $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$), fenil(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo fenilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ ó $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$) o heteroaril(C_{1-4}) alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ o $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$);
 p y q son, independientemente, 0, 1 ó 2;
 R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} y R^{13} son, independientemente, H o C_{1-4} alquilo;
 R^{14} es H o C_{1-4} alquilo; y,
 R^{15} es H o C_{1-4} alquilo;
o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal.

3. Un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal, como se reivindica en la reivindicación 2 en donde:

X es $(CH_2)_4$;

R^1 es CO_2R^{15} ;

R^2 es un C_{1-6} alquilo de cadena recta sustituido en su terminal por NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; C_{3-6} cicloalquilo sustituido por NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; heterociclilo que contiene por lo menos un átomo de nitrógeno; heterociclilo que contiene no nitrógeno sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; heteroarilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; fenilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; heteroaril(C_{1-4})alquilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; fenil(C_{1-4})alquilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; o C_{3-6} cicloalquil(C_{1-4})alquilo sustituido con NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; sustituyéndose la totalidad de los anillos anteriores, de manera opcional, por uno o más de: halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi u OCF_3 ; uno de R^3 , R^4 , R^5 y R^6 es independientemente, hidrógeno, heteroaril(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$); y los otros son, independientemente, hidrógeno, C_{1-6} alquilo (sustituido opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, SH , $S(O)_3H$, $S(O)_q(C_{1-6}$ alquilo), $OC(O)(C_{1-4}$ alquilo), CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , $COOH$, $CONH_2$, $CONH(C_{1-6}$ alquilo), NH_2 , $CNH(NH_2)$, o $NHCNH(NH_2)$), C_{3-6} cicloalquil(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo cicloalquilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$), heterocicli(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo heterociclilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$), fenil(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo fenilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ ó $NHCNH(NH_2)$) o heteroaril(C_{1-4})alquilo (en donde el anillo heteroarilo se sustituye opcionalmente por halógeno, hidroxilo, ciano, C_{1-4} alquilo, CF_3 , C_{1-4} alcoxi, OCF_3 , NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$);
p y q son, independientemente, 0, 1 ó 2;

$R^7, R^8, R^9, R^{10}, R^{11}, R^{12}$ y R^{13} son, independientemente, H o C_{1-4} alquilo;
 R^{14} es H o C_{1-4} alquilo; y,
 R^{15} es H o C_{1-4} alquilo;
o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal.

4. Un compuesto de fórmula (I) ó su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal como se reivindica en la reivindicación 2 ó 3 en donde:

R^1 es CO_2R^{15} ;

R^2 es un C_{1-6} alquilo de cadena recta sustituido en su terminal por NH_2 , $CNH(NH_2)$ o $NHCNH(NH_2)$; C_4 alquilo (tal como $CH(CH_3)CH_2CH_3$ o $CH_2CH(CH_3)_2$); o (aminopiridinil)metilo (por ejemplo (6-aminopiridin-3-il)metilo);

uno de R^3 y R^4 es (indol-3-il) CH_2 sustituido opcionalmente por halo o hidroxilo; y el otro es bencilo (sustituido opcionalmente por halo o hidroxilo) o C_4 alquilo (tal como $CH(CH_3)CH_2CH_3$ o $CH_2CH(CH_3)_2$);

o R^3 y R^4 son ambos metilo;

R^5 y R^6 son, independientemente, C_{1-6} alquilo (por ejemplo CH_3 , $CH(CH_3)_2$, $CH(CH_3)CH_2CH_3$ o $CH_2CH(CH_3)_2$);

$R^7, R^8, R^9, R^{11}, R^{12}, R^{13}$ y R^{14} son H;

R^{10} es C_{1-4} alquilo; y,

R^{15} es H o C_{1-4} alquilo.

5. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 en donde X es $(CH_2)_4$.

6. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5 en donde R^1 es CO_2R^{15} en el cual R^{15} es H o C_{1-4} alquilo.

7. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6 en donde R^2 es un C_{1-6} alquilo de cadena recta

sustituido en su terminal por NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$ o $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$; C_4 alquilo (tal como $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ o $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$); o (aminopiridinil)metilo.

8. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 en donde R^2 es C_{1-6} alquilo ($\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ o $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), bencilo, C_{1-6} alquilo de cadena recta, sustituido en su término por NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$, $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$ o (6-aminopiridin-3-il)metilo.

9. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8 en donde R^2 es un C_{1-6} alquilo de cadena recta sustituido en su término por NH_2 , $\text{CNH}(\text{NH}_2)$, $\text{NHCNH}(\text{NH}_2)$ o (6-aminopiridin-3-il)metilo.

10. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 8 en donde R^3 es CH_2 indolilo (en donde el indolilo se sustituye opcionalmente por uno o más de: halógeno o hidroxilo, C_{1-4} alquilo o bencilo (sustituido opcionalmente por halógeno o hidroxilo)).

11. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10 en donde R^4 es CH_2 indolilo (en donde el indolilo se sustituye opcionalmente por uno o más de halógeno o hidroxilo, C_{1-6} alquilo ($\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ o $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$) o bencilo (sustituido opcionalmente por halógeno o hidroxilo)).

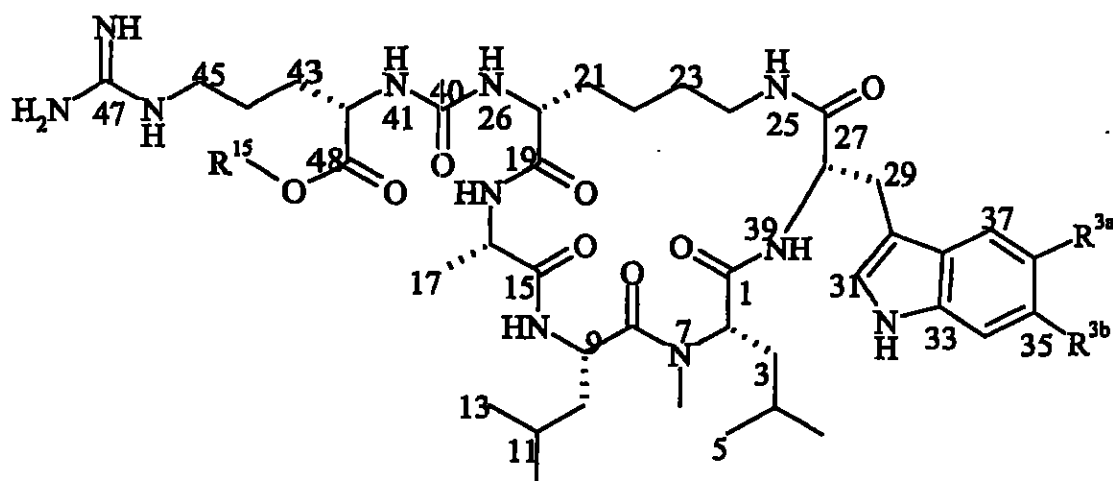
12. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 11 en donde R^5 y R^6 son, independientemente, C_{1-6} alquilo (tal como metilo, iso-propilo, $\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ o $\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$).

13. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 12 en donde R^7 , R^8 , R^9 , R^{10} , R^{11} , R^{12} , R^{13} y R^{14} son todos H.

103

14. Un compuesto como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4 en donde R^{10} es C_{1-4} alquilo.

15. A compuesto como se reivindica en la reivindicación 2, el cual es un compuesto de la siguiente fórmula



en la cual

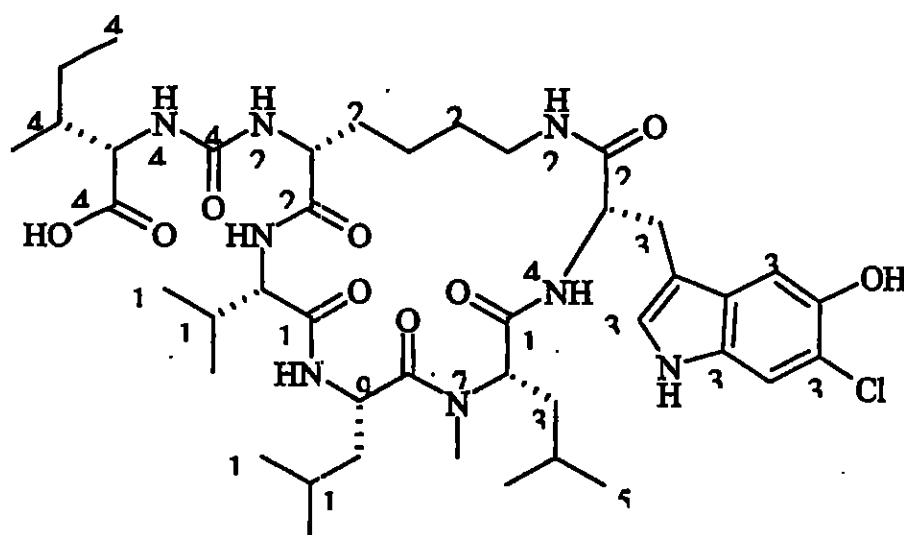
R^{3a} es H, R^{3b} es H y R^{15} es H;

R^{3a} es OH, R^{3b} es Cl y R^{15} es H;

R^{3a} es OH, R^{3b} es Cl y R^{15} es CH_3 ;

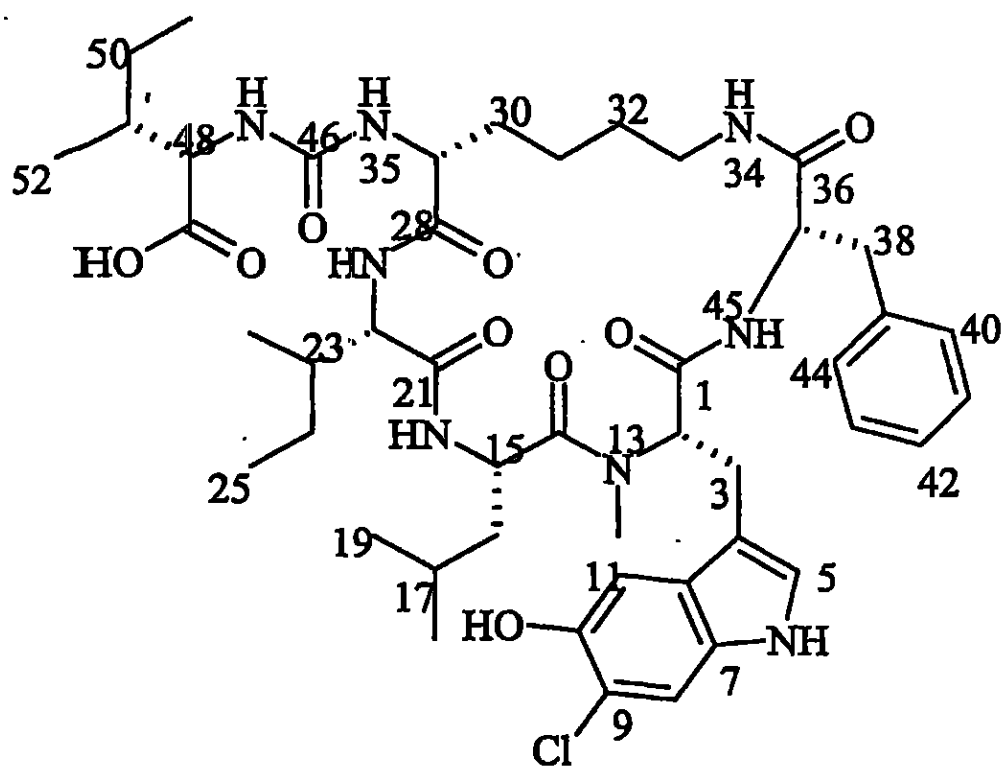
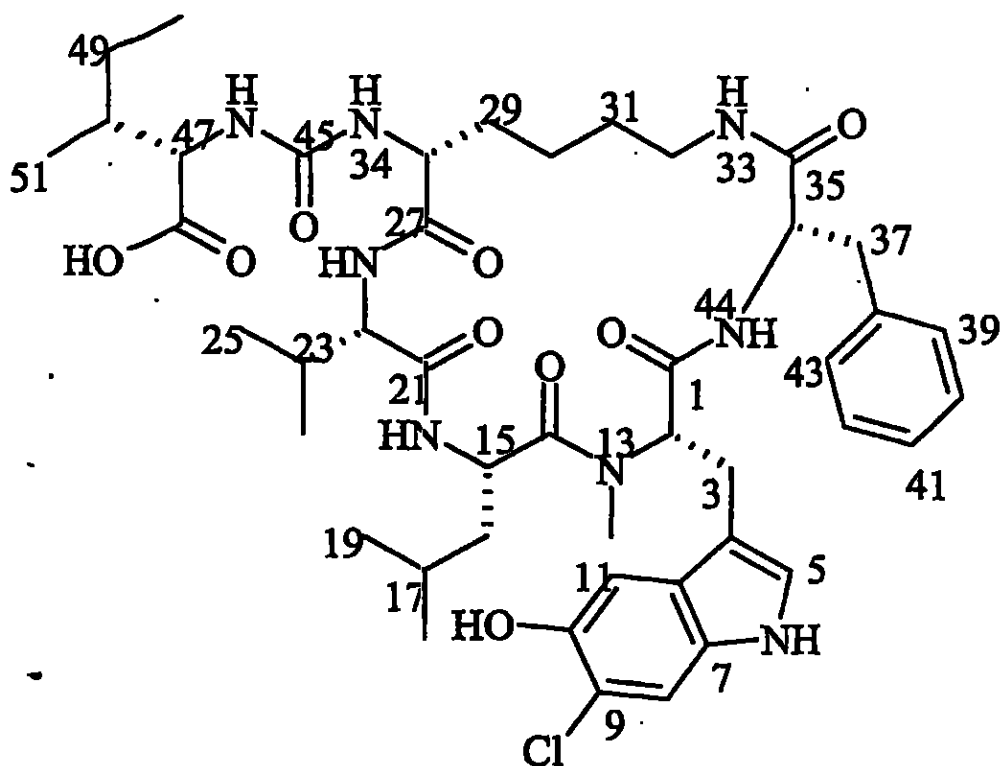
R^{3a} es H, R^{3b} es H y R^{15} es CH_3 ;

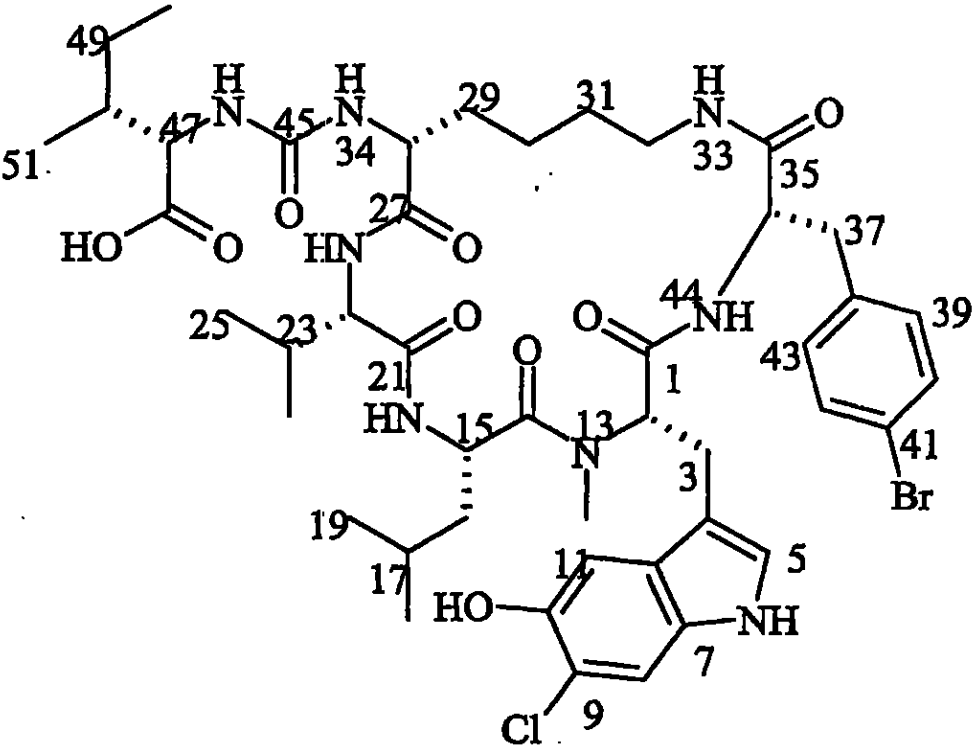
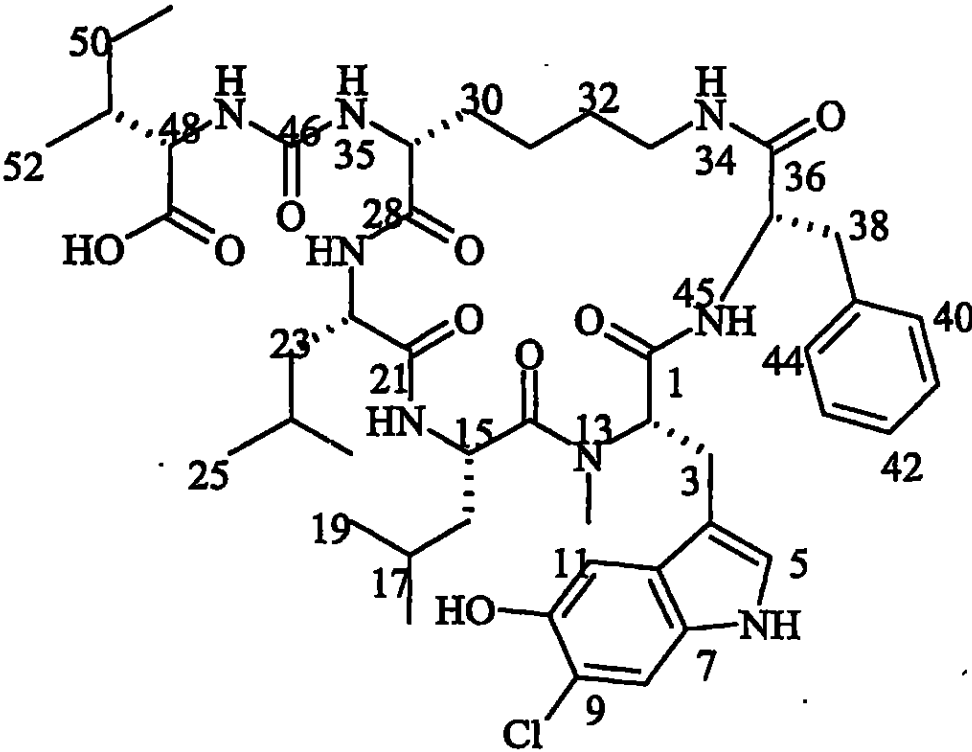
R^{3a} es H, R^{3b} es Cl y R^{15} es H;

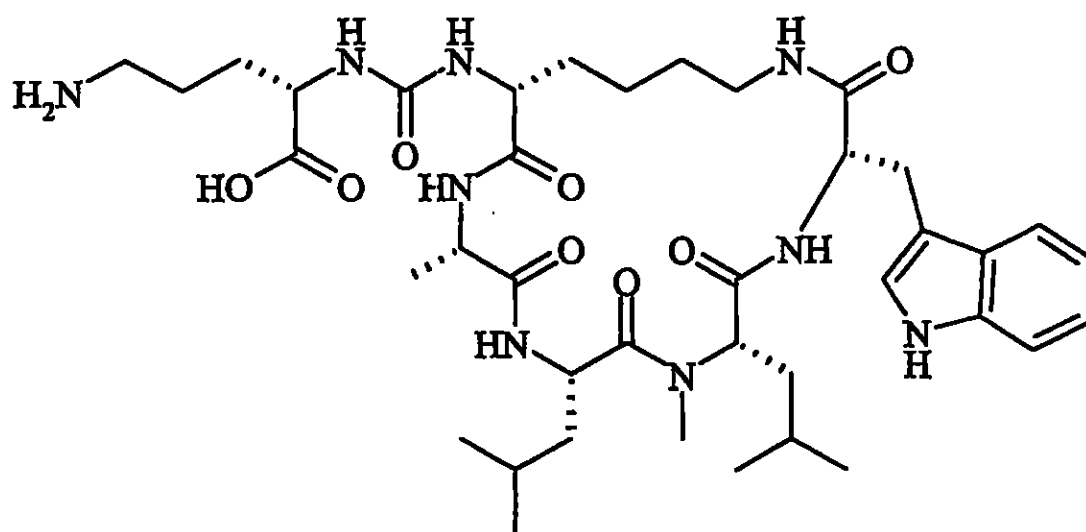
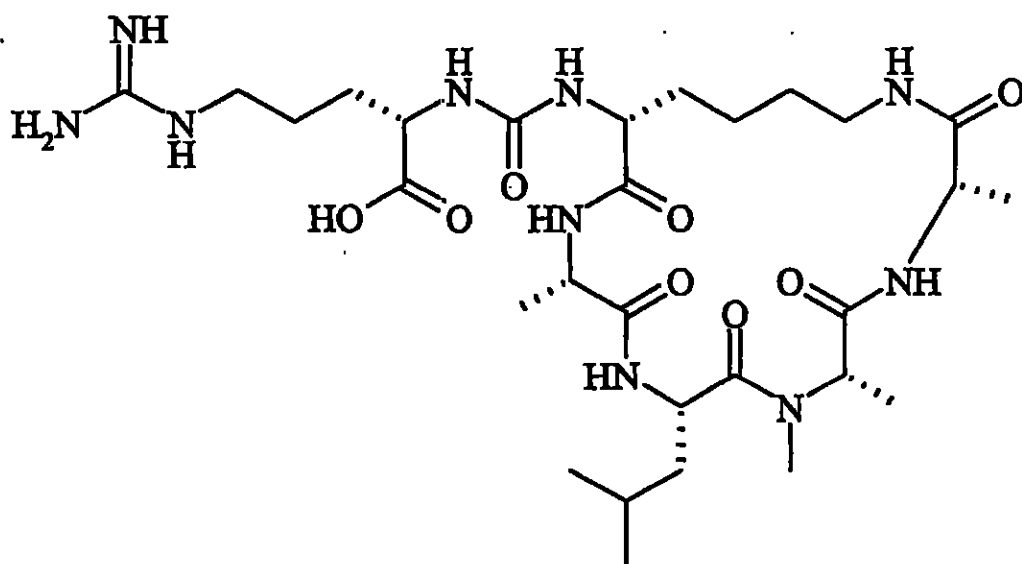
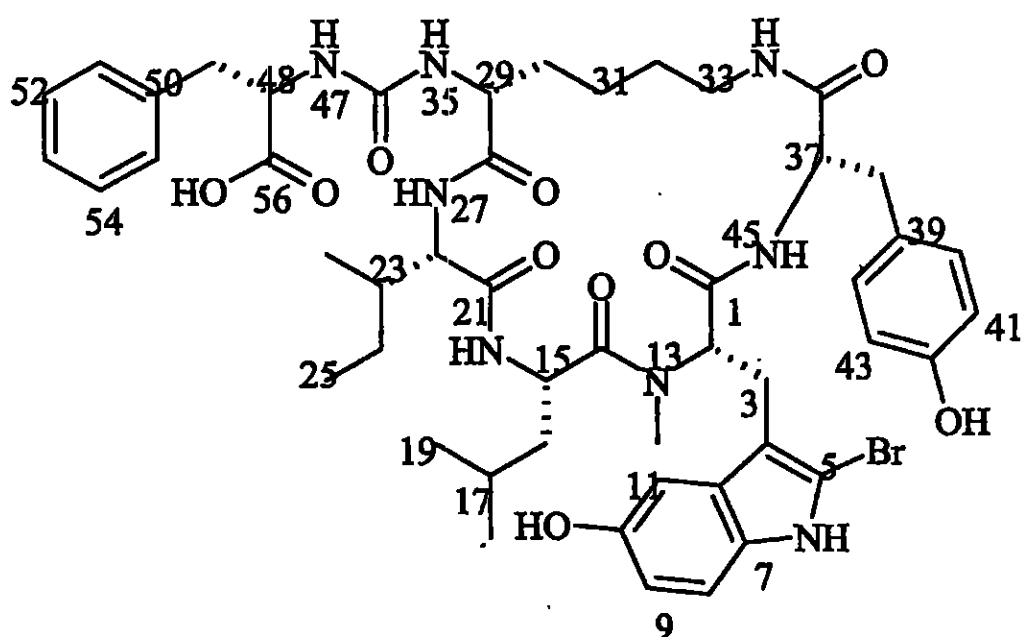


50

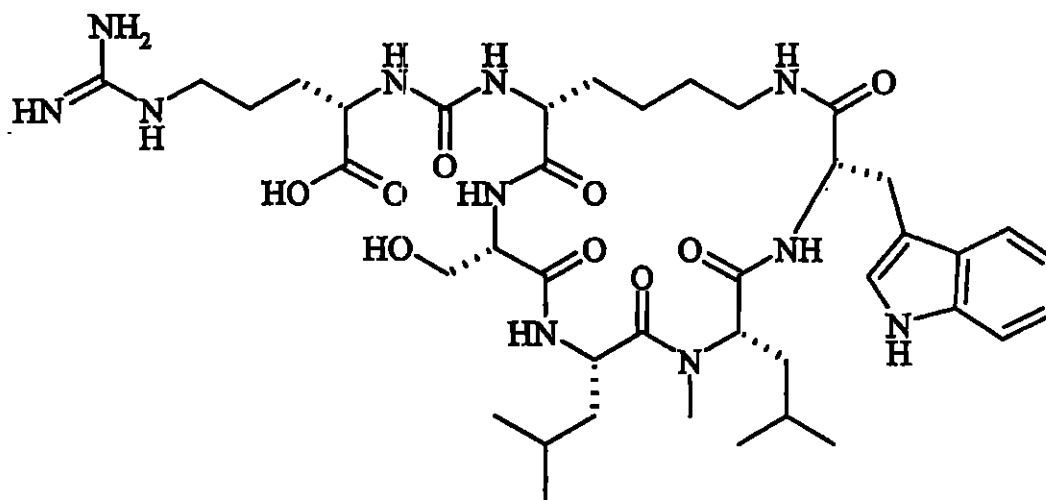
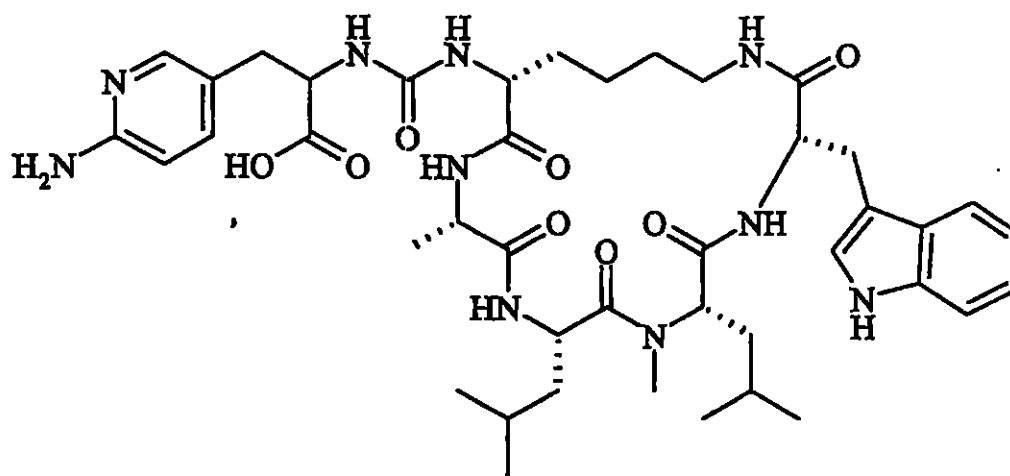
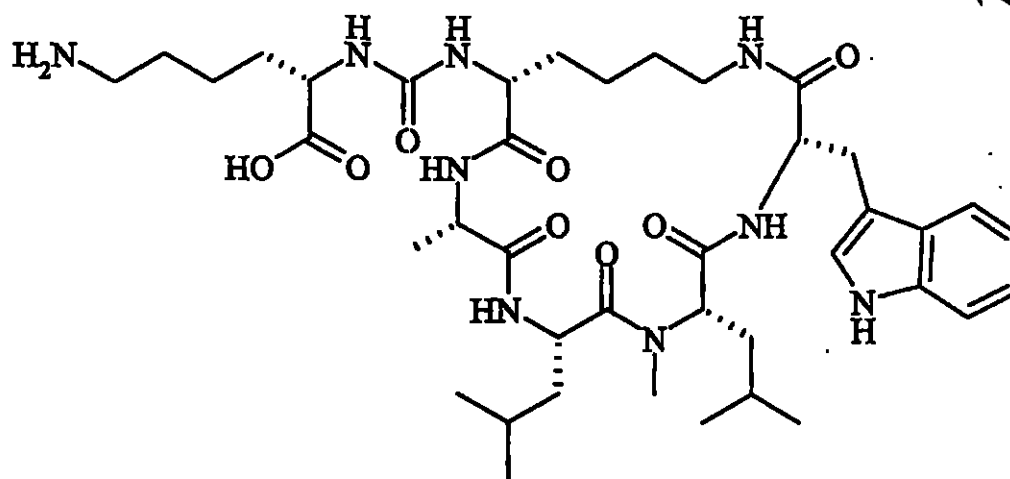
104







107



o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de su sal farmacéuticamente aceptable.

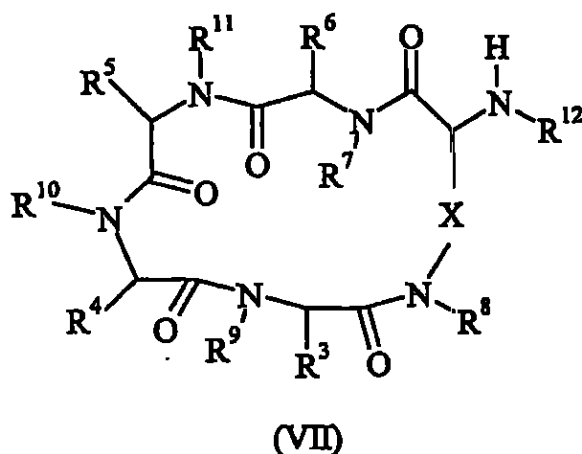
16. El uso de un compuesto de fórmula (I) ó su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal; como se reivindica en una

cualquiera de las reivindicaciones 2 a 15 en un método de fabricar un medicamento para el tratamiento o profilaxis de una enfermedad donde la inhibición de carboxipeptidasa U es benéfica.

17. El uso como se reivindica en la reivindicación 16 para la manufactura de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de trombosis y/o hipercoagulabilidad en la sangre y/o tejidos; arteriosclerosis; enfermedades fibróticas; enfermedades inflamatorias; o una enfermedad que se beneficia de mantener o aumentar niveles de bradicinina en el cuerpo de un mamífero (tal como el hombre).

18. Una formulación farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable o solvato, o un solvato de tal sal; como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 15 como ingrediente activo en combinación con un coadyuvante, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

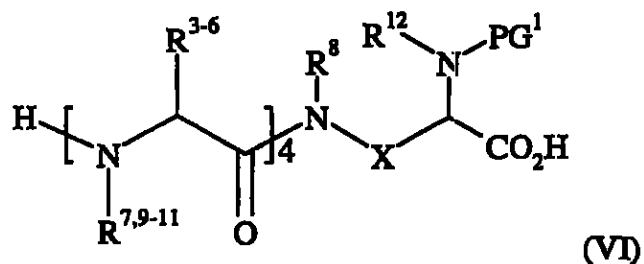
19. Un compuesto de fórmula



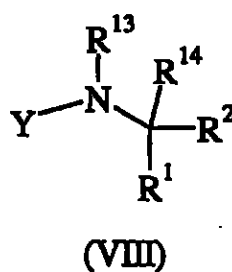
en donde R³ a R¹² y X son como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14.

20. Un proceso para preparar un compuesto como se reivindica en la reivindicación 19, el cual comprende tratar un compuesto de fórmula VI, en la que PG1 es un grupo protector adecuado, con un agente de acoplamiento

de péptido en la presencia de una base no nucleófila en un disolvente aprótico polar y, a continuación, retirar el grupo protector.



21. Un proceso para preparar un compuesto de fórmula I, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 17, el cual comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula VII, como se define en la reivindicación 19, con un compuesto de fórmula VIII



en la cual Y es un éster activado o NY es un grupo isocianato.

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	Form PCT/RO/101 PCT Request	
0-4-1	Prepared Using	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.50 (Build 0002.163)
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	Swedish Patent Office (RO/SE)
0-7	Applicant's or agent's file reference	101067-1 WO
I	Title of invention	CHEMICAL COMPOUNDS
II	Applicant	
II-1	This person is	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	ASTRAZENECA AB
II-5	Address	151 85 Södertälje Sweden
II-6	State of nationality	SE
II-7	State of residence	SE
II-8	Telephone No.	+46 8 553 260 00
II-9	Facsimile No.	+46 8 553 288 20
III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	BJÖRQUIST, Petter
III-1-5	Address	Cellartis AB Arvid Wallgrens Backe 20 413 46 Göteborg Sweden
III-1-6	State of nationality	SE
III-1-7	State of residence	SE

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

III-2	Applicant and/or inventor	
III-2-1	This person is	applicant and inventor
III-2-2	Applicant for	US only
III-2-4	Name (LAST, First)	BUCHANAN, Malcolm
III-2-5	Address	Natural Product Discovery Don Young Rd Mt Gravatt Research Park Brisbane, Queensland 4111 Australia
III-2-6	State of nationality	AU
III-2-7	State of residence	AU
III-3	Applicant and/or inventor	
III-3-1	This person is	applicant and inventor
III-3-2	Applicant for	US only
III-3-4	Name (LAST, First)	CAMPITELLI, Marc
III-3-5	Address	Natural Product Discovery Don Young Rd Mt Gravatt Research Park Brisbane, Queensland 4111 Australia
III-3-6	State of nationality	AU
III-3-7	State of residence	AU
III-4	Applicant and/or inventor	
III-4-1	This person is	applicant and inventor
III-4-2	Applicant for	US only
III-4-4	Name (LAST, First)	CARROLL, Anthony
III-4-5	Address	Natural Product Discovery Don Young Rd Mt Gravatt Research Park Brisbane, Queensland 4111 Australia
III-4-6	State of nationality	AU
III-4-7	State of residence	AU

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

III-5	Applicant and/or Inventor	
III-5-1	This person is	applicant and inventor
III-5-2	Applicant for	US only
III-5-4	Name (LAST, First)	HYDE, Edward
III-5-5	Address	Natural Product Discovery Don Young Rd Mt Gravatt Research Park Brisbane, Queensland 4111 Australia
III-5-6	State of nationality	AU
III-5-7	State of residence	AU
III-6	Applicant and/or Inventor	
III-6-1	This person is	applicant and inventor
III-6-2	Applicant for	US only
III-6-4	Name (LAST, First)	NEVE, Juliette
III-6-5	Address	Natural Product Discovery Don Young Rd Mt Gravatt Research Park Brisbane, Queensland 4111 Australia
III-6-6	State of nationality	AU
III-6-7	State of residence	AU
III-7	Applicant and/or Inventor	
III-7-1	This person is	applicant and inventor
III-7-2	Applicant for	US only
III-7-4	Name (LAST, First)	POLLA, Magnus
III-7-5	Address	AstraZeneca R&D Mölndal 431 83 Mölndal Sweden
III-7-6	State of nationality	SE
III-7-7	State of residence	SE

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

III-8	Applicant and/or inventor	
III-8-1	This person is	applicant and inventor
III-8-2	Applicant for	US only
III-8-4	Name (LAST, First)	QUINN, Ron
III-8-5	Address	Natural Product Discovery Don Young Rd Mt Gravatt Research Park Brisbane, Queensland 4111 Australia
III-8-6	State of nationality	AU
III-8-7	State of residence	AU
IV-1	Agent or common representative; or address for correspondence The person identified below is hereby/ has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:	agent
IV-1-1	Name	ASTRAZENECA
IV-1-2	Address	Global Intellectual Property 151 85 Södertälje Sweden
IV-1-3	Telephone No.	+46 8 553 260 00
IV-1-4	Facsimile No.	+46 8 553 288 20
V	DESIGNATIONS	
V-1	The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a), the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.	
VI-1	Priority claim of earlier national application	
VI-1-1	Filing date	29 October 2003 (29.10.2003)
VI-1-2	Number	0302853-7
VI-1-3	Country	SE
VII-1	International Searching Authority Chosen	Swedish Patent Office (ISA/SE)
VII-2	Request to use results of earlier search; reference to that search	
VII-2-1	Date	29 October 2003 (29.10.2003)
VII-2-2	Number	SE 03/00817
VII-2-3	Country (or regional Office)	SE

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	-	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	-	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	-	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	-	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	
IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	6	✓
IX-2	Description	56	-
IX-3	Claims	12	-
IX-4	Abstract	1	✓
IX-5	Drawings	0	-
IX-7	TOTAL	75	
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-11	Copy of general power of attorney	reference no. GF 3909/04	-
IX-13	Priority document(s)	Item(s) VI-1	-
IX-17	PCT-SAFE physical media	-	✓
IX-18	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative		
X-1-1	Name	ASTRAZENECA	
X-1-2	Name of signatory	Ann-Sofie Sternås	
X-1-3	Capacity		

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION)

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/SE
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

Brigard & Castro

BOGOTÁ - COLOMBIA

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros)

I (We) ASTRAZENECA AB

domiciliado(s) en

domiciled in SE-151 Södertälje, Sweden

Nombro(amos) a: RAMIRO CASTRO DUQUE y/o JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO S.

de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseñanzas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de mis (nuestros) intereses, con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro(amos) a: RAMIRO CASTRO DUQUE y/o JUAN PABLO CADENA SARMIENTO y/o BEATRIZ JARAMILLO S. domiciliado(s) en la Carrera 7 No. 16-56 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

hoy de de 200

Firma

Nombre
Cargo

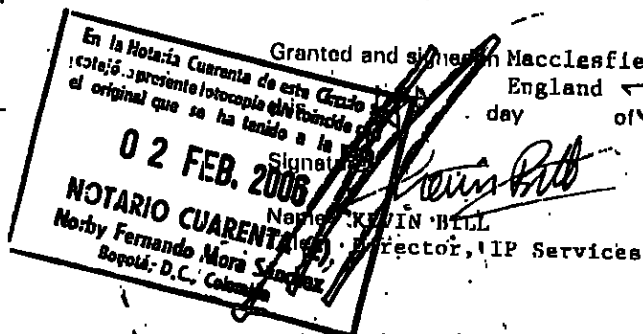
Hereby appoint RAMIRO CASTRO DUQUE and/or JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO S.

of Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificates of obtainers of vegetable varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, action of unfair competition; penal demands, actions of indemnities for damages; claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models; in the exercise of preventive measures; and in other actions or similar proceedings.

To that effect they are hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kind of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (We) hereby appoint RAMIRO CASTRO DUQUE and/or JUAN PABLO CADENA SARMIENTO and/or BEATRIZ JARAMILLO S.

domiciled in Carrera 7 No. 16-56, Piso 9, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys.



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Hoy de de
personalmente compareció ante mí

a quien conozco, y de quien me consta que firmó el
anterior documento, debidamente juramentado declaró
y dijo que él es

de

Sociedad legalmente constituida para un período de
duración que aún no ha terminado; que el declarante
está autorizado por dicha compañía para conferir este
poder; que el sello estampado por él al pie de tal poder,
en nombre y representación de la expresada compañía,
es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se
confiere este instrumento está comprendido dentro del
de la sociedad.

El suscrito Notario hace constar que tuvo a la vista las
pruebas de la existencia de la sociedad.

Estado de
con fecha

y que quien confiere el presente poder es su
representante.

Notario Público (sello)

**CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL**

Hoy de de , compareció(eron)
ante mí

a quien (es) conozco y me consta que es(son) la(s)
persona(s) firmante(s) del documento que precede y
quien(es) declara(n) que otorgan el mismo para los
fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público (sello)

LEGALIZACION POR APOSTILLA ES REQUERIDA.

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

On this 18th day of July 2003 of
personally appeared before me

to me known, and known to me to be the person who
signed the foregoing instrument who being by me duly
sworn did depose and say that he (she) is the

ATTORNEY

of

ATRAZENECA AB

Which is legally constituted for a term not yet expired,
that deponent is authorized by said Company to confer
this Power of Attorney: that the seal affixed hereunto
by the deponent in the name and on behalf of said
Corporation is the corporate seal thereof; and that
purpose for which this instrument is granted
included within the corporate purpose of company.

The undersigned Notary Public attests that he has seen
the documents that prove the existence of the
company.

State of Sweden
under date of 1st January 2003

and that he (she) who grants the present power of
attorney is its Representative.

Notary Public (Seal)

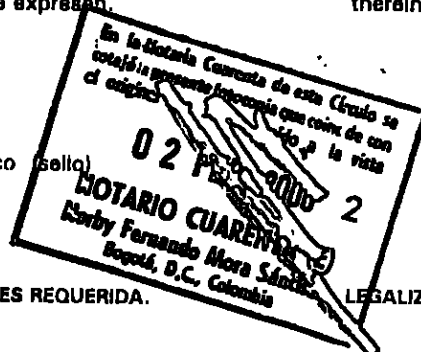
**NOTARIAL CERTIFICATE
NATURAL PERSON**

On this day of of
personally appeared before me

who is(are) known to me and who I attest executed
the foregoing document and he (they) declared he
(they) grant(s) the document for the uses and purposes
therein expressed.

Notary Public (Seal)

LEGALIZATION BY APOSTILLE IS REQUIRED.



114

2

APOSTILLE
(Hague Convention of 5 October 1961 / Convention de La Haye du 5 octobre 1961)
UNITED KINGDOM OF GREAT BRITAIN AND NORTHERN IRELAND

1. Country: United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland
Pays: Royaume-Uni de Grande-Bretagne et d'Irlande du Nord

This public document / Le présent acte public

2. Has been signed by J B Hodgson
a été signé par
3. Acting in the capacity of Notary Public
agissant en qualité de
4. Bears the seal/stamp of The Said Notary Public
est revêtu du sceau/timbre de

Certified/Attesté
6. the/le 17 February 2004

5. at London/à Londres
7. by Her Majesty's Principal Secretary of State for Foreign and Commonwealth Affairs /
par le Secrétaire d'Etat Principal de Sa Majesté aux Affaires Etrangères et du Commonwealth.

8. Number/sous No G348987

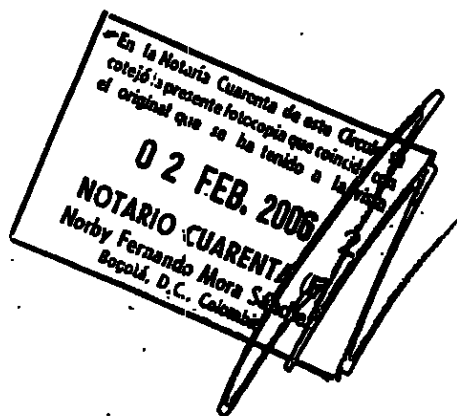
9. Stamp:
timbre:

10. Signature: J. Ireland



For the Secretary of State / Pour le Secrétaire d'Etat

If this document is to be used in a country which is not party to the Hague Convention of 5 October 1961,
it should be presented to the consular section of the mission representing that country.



118/15

TRADUCCIÓN SIMPLE AL ESPAÑOL del la Apostilla que vienen junto con el Certificado Notarial (Sociedad) y el Poder concedido por **ASTRAZENECA AB**, domiciliada en SE - 151 Sodertälje, Suecia a **Ramiro Castro Duque y/o Juan Pablo Cadena Sarmiento y/o Beatriz Jaramillo S**, domiciliados en la Carrera 7 #16-56, P. 9, Bogotá D.C., Colombia.

AUTENTICACIÓN

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

REINO UNIDO DE GRAN BRETAÑA E IRLANDA DEL NORTE

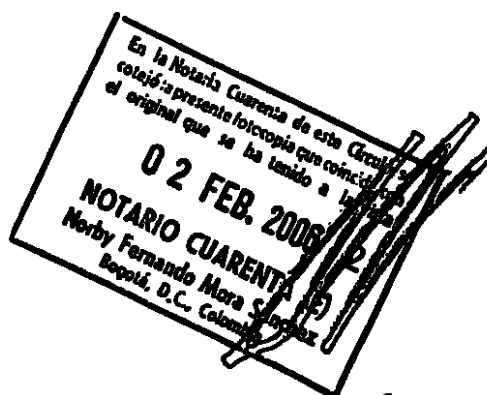
1. País: Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte
2. Este documento público
ha sido firmado por **J. B. Hodgson**
3. actuando en capacidad de **Notario Público**
4. lleva el sello de: **Dicho Notario Público**

CERTIFICADO

5. en Londres
6. el 17 de Febrero de 2004
7. por El secretario de Estado Principal de Su Majestad para Asuntos Exteriores y de la Comunidad
8. No. **G348987**
9. Sello
10. Firma

J. Ireland (Firma)

Si este documento va a ser utilizado en un país que no es parte de la Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961, debe ser presentado a la sección consular de la misión que representa a ese país.

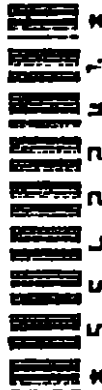




ORGANIZACIÓN ELECTORAL
REGISTRADURÍA NACIONAL DEL ESTADO CIVIL

GAVIRI

116
117



REGISTRO CIVIL DE DEFUNCIÓN

Indicativo
Serial

5562241

Datos de la oficina de registro									
Clase de oficina:	Registraduría	Notaría	☒	Consulado	Corregimiento	Insp. de Policía	Código	979b	
País - Departamento - Municipio - Corregimiento o Inspección de Policía									
COLOMBIA CUNDINAMARCA BOGOTÁ D.C.						NOTARÍA 32.			

Datos del inscrito	
Apellidos y nombres completos	
CASTRO DUQUE RAMIRO	
Documento de identificación (Clase y número)	Sexo (en Letras)
C.C. No. 170322 DE BOGOTÁ	MASCULINO

Datos de la defunción			
Lugar de la Defunción: País - Departamento - Municipio - Corregimiento o Inspección de Policía			
COLOMBIA CUNDINAMARCA BOGOTÁ D.C.			
Fecha de la defunción		Hora	Número de certificado de defunción
Año	2004	04:10 PM	A- 2094375.
Presunción de muerte		Fecha de la sentencia	
Jurado que profiere la sentencia		Año Mes Día	
Documento presentado		Nombre y cargo del funcionario	
Autorización judicial	Certificado Médico	ANDRÉS DÍAZ CAMPOS	
	☒	R.M. No. 79982662	

Datos del denunciante	
Apellidos y nombres completos	
EDGAR DAVID REGINO II.	
Documento de identificación (Clase y número)	Firma
C.C. No. 15.030.154 DE LORICA/ CORDOBA	

Primer testigo	
Apellidos y nombres completos	
Documento de identificación (Clase y número)	
Firma	

Segundo testigo	
Apellidos y nombres completos	
Documento de identificación (Clase y número)	
Firma	

Fecha de inscripción		Nombre y firma del funcionario que autoriza	
Año	2004	BLANCA TRICIA ALEJO RESTREPO	
Mes	1	NOTARÍA	
Día	02		

PADRES: ALFONSO CASTRO		ESPACIO PARA NOTAS	
MERCEDES DUQUE.			

ORIGINAL PARA LA OFICINA DE REGISTRO

NOTARIA 32

DEL CÍRCULO DE SANTA FE DE BOGOTÁ, D.C.

Germán Eleázar Moreno L.
Notario

COMO SECRETARIO DELEGADO DE LA NOTARIA TREINTA Y DOS (32) DEL
CÍRCULO DE BOGOTÁ

CERTIFICADO QUE:

La presente acta es fiel copia del original tomada del registro
civil de defunciones serial indicativa número: 56224
que expido en la ciudad de Bogotá D.C. hoy: 05 NOV. 2004

NOTARIA 32 DEL CÍRCULO DE BOGOTÁ D.C.
GERMÁN ELEÁZAR MORENO L.
SECRETARIO DELEGADO

NELSON FLORES C.
SECRETARIO DEL PADO PARA COPIAS
DECRETO 1834 DE 1989



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

117 118

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Rad: 06-049388-00000-0000
Fec: 2006-05-23 16:40:30 Dep. 2020 NUECREACIONES
Tra. 11 PATENTEYII
Evo: 378 FASENACIONALI
Act 411 PRESENTACION
Folios: 117

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: