COMPUESTOS INHIBIDORES DE LA MASP Y USOS DE ESTOS

La presente invención se refiere a los nuevos compuestos inhibidores de la peptidasa de serina asociada a la lectina de unión a la manosa (MBL) (MASP), así como a sus análogos y derivados, a los procesos para la preparación de estos, al uso de estos solos o en combinaciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades y al uso de estos para la elaboración de medicamentos para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, especialmente para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades renales y cardiovasculares y de lesiones por isquemia y reperfusión.

El sistema del complemento consiste en una red compleja en cascada de proteínas, receptores y enzimas, muchas de las cuales circulan por el torrente sanguíneo. El sistema del complemento es un componente importante de la inmunidad innata y es fundamental para la defensa contra los patógenos invasores y la eliminación de las células muertas y las infectadas por virus. Este sistema forma un puente entre las respuestas inmunitarias innatas y las adaptativas. La activación del sistema del complemento también está implicada en las enfermedades como las lesiones por sepsis e isquemia y reperfusión, por ejemplo, después de un infarto de miocardio, una lesión renal isquémica o un trasplante de órganos. Se han identificado tres ramas del sistema del complemento: la vía de las lectinas, la vía clásica y la vía alternativa (Dunkelberger y Song, *Complement and its role in innate and adaptive immune responses*. *Cell Res. 2010; 20(1): 34-50*). La vía de las lectinas se activa mediante el depósito de lectinas que circulan en el torrente sanguíneo y que, en condiciones normales, tienen una función de vigilancia contra los microorganismos patógenos invasores y las células muertas al reconocer patrones de superficie de carbohidratos extraños y alterados, respectivamente, y al adornar sus superficies. La lectina de unión a la manosa (MBL), las ficolinas y las colectinas son los principales representantes de estas lectinas que se producen en el hígado, el riñón y otros órganos (Garred *et al., A journey through the lectin pathway of complement-MBL and beyond*. *Immunol Rev. 2016;274(1):74-97*). A su depósito le si-

gue un reclutamiento adicional de zimógenos, principalmente provenientes de dos peptidasas de serina estrechamente relacionadas del torrente sanguíneo, las peptidasas de serina 1 y 2 asociadas a la lectina de unión a la manosa (MASP-1 y MASP-2) que forma un complejo donde los zimógenos se acercan unos a otros. El concepto actual es que, en condiciones *in vivo* y después del reclutamiento, el zimógeno de la MASP-1 se activa a sí mismo y luego activa al zimógeno de la MASP-2 por escisión. A su vez, la MASP-1 activada escinde al factor del complemento C2 en C2a y C2b. La MASP-2 activada también divide al C2 y al factor del complemento C4 en C4a y C4b, que junto con el C2a forman el complejo C4bC2a, que funciona como convertasa del factor C3 del complemento. La constitución de la actividad de la convertasa de C3 y el depósito consecutivo de C3 en las superficies de las células diana representa el punto de convergencia de las tres vías del complemento, lo que activa la cascada común en dirección 3′ que da lugar a la generación de mediadores inflamatorios y a la lisis de las células diana. En el suero humano intacto, las actividades de ambas enzimas MASP son indispensables para la formación de la convertasa de C3 (Héja *et al, Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(26):10498-503*).

El sistema microvascular desempeña un papel crucial durante los trastornos inflamatorios e isquémicos de los órganos. La función de barrera, el tráfico de leucocitos y el control de la coagulación dependen estrechamente de la integridad de la superficie de la célula endotelial luminal en los vasos sanguíneos pequeños. La superficie del endotelio luminal está revestida por una capa gruesa de extensiones de glicosilación de las glicoproteínas, los proteoglicanos y los glicolípidos integrados en la membrana, que en conjunto se denominan los glucocáliz. Los análisis al microscopio electrónico de las muestras procedentes de experimentos con animales y enfermedades humanas han demostrado que, en particular, los glucocáliz endoteliales se degradan rápida y fundamentalmente en caso de problemas isquémicos, así como en afecciones inflamatorias tal

como la sepsis. Estos cambios dan lugar a la exposición de residuos de carbohidratos al torrente sanguíneo, que en condiciones normales no se pueden detectar (consulte la revisión en: *Sieve et al., Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. Vascul Pharmacol. 2018; 100: 26-33*). En particular, además de otros cambios de la superficie celular, se cree que la alteración del patrón de carbohidratos activa la vía de las lectinas, lo que provoca el depósito del patrón de reconocimiento de las lectinas, el subsiguiente depósito de C3 y el inicio de la lisis celular. Se demostró que el depósito de MBL y C3 se producía después de una isquemia y una lesión renal aguda en todas las especies, incluido el ser humano. La activación de la vía de las lectinas fue de particular importancia para los daños por reperfusión, ya que la supresión selectiva de la MBL y la MASP-2 protegió a los ratones de los daños por isquemia y reperfusión en el corazón, el intestino y el riñón (Møller-Kristensen *et al., Mannan-binding lectin recognizes structures on ischaemic reperfused mouse kidneys and is implicated in tissue injury. Scand J Immunol. 2005; 61(5): 426-34; Schwaeble et al., Targeting of mannan-binding lectin-associated serine protease-2 confers protection from myocardial and gastrointestinal ischemia/reperfusion injury. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011; 108(18): 7523-8*). Además, la deleción de la colectina 11, otra lectina activadora de la MASP que se expresa predominantemente en el riñón, hizo a los ratones resistentes contra la lesión renal aguda isquémica (Farrar *et al., Collectin-11 detects stress-induced L-fucose pattern to trigger renal epithelial injury. J Clin Invest. 2016; 126(5): 1911-1925*). Se han identificado inhibidores peptídicos selectivos de la MASP-1 y la MASP-2 a partir de fagotecas que utilizan como punto de partida los inhibidores naturales de la tripsina de los girasoles o de los saltamontes. Se ha demostrado que estos péptidos inhiben la formación *in vitro* de la convertasa de C3 que depende de la vía de las lectinas (Kocsis *et al., Selective inhibition of the lectin pathway of complement with phage display selected peptides against mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1 and -2: significant contribution of MASP-1 to lectin pathway activation. J Immu-*

nol. 2010; 185(7): 4169-78; Héja et al., Monospecific inhibitors show that both mannan-binding lectin-associated serine protease-1 (MASP-1) and are essential for lectin pathway activation and reveal structural plasticity of MASP-2. J Biol Chem. 2012; 287(24): 20290-300). Sin embargo, todavía no se dispone de pruebas de la utilidad farmacéutica y la eficacia *in vivo* de esos inhibidores peptídicos. Del mismo modo, se han identificado anticuerpos dirigidos contra la MASP-2 que interfieren con la interacción del zimógeno de la MASP y se han sometido al desarrollo clínico para el tratamiento del síndrome urémico hemolítico atípico y otras enfermedades inflamatorias del riñón (*ClinicalTrials.gov Identifier: NCT03205995; NCT02682407; NCT03608033*). Sin embargo, todavía faltan pruebas clínicas sobre su utilidad en la prevención o el tratamiento de las lesiones agudas, en particular de los órganos isquémicos.

En WO 2004/075837 se divulgan los anticuerpos anti-MASP, fragmentos funcionalmente equivalentes de estos y péptidos aglutinantes de la MASP para reducir la morbilidad y la mortalidad causadas por el daño tisular asociado a la lesión por isquemia y reperfusión o a la reparación del aneurisma aórtico toracoabdominal (TAAA) por inhibición del sistema del complemento. Los péptidos pequeños, tales como el inhibidor 1 de la MASP del girasol (SFMI-1) y el inhibidor 2 de la MASP del girasol (SFMI-2), así como sus derivados para el tratamiento de las enfermedades relacionadas con el sistema del complemento, principalmente la vía de las lectinas, se describieron por primera vez en WO 2010/136831.

En WO 2015/054298 se divulgan los métodos para preservar la visión o reducir la pérdida de visión de un sujeto y para inhibir o reducir la muerte de las células fotorreceptoras de un sujeto mediante la reducción de la actividad de la MASP-1, MASP-2 o MASP-3. En WO 2004/106384, WO 2005/123128, WO 2007/117996 y WO 2014/144542 se divulgan los anticuerpos anti-MASP-2 para el tratamiento de las enfermedades asociadas con la activación del complemento dependiente de MASP-2.

El objeto de la presente invención era proporcionar péptidos nuevos que tengan efectos inhibitorios sobre las enzimas MASP-1 y/o MASP-2 y otras propiedades beneficiosas que los conviertan en adecuados como alternativas eficientes y seguras para la prevención y/o el tratamiento de los trastornos asociados a la MASP-1 y/o MASP-2, como se define a continuación. Otro objeto era proporcionar péptidos nuevos, con un mayor efecto inhibidor sobre la enzima MASP-1 y/o MASP-2 de humanos y/o la enzima MASP-1 y/o MASP-2 de ratas.

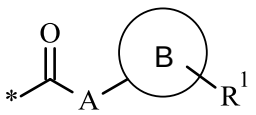
Por lo general, la presente invención se relaciona con péptidos que actúan como inhibidores de las enzimas MASP-1 y/o MASP-2 y con los métodos de fabricación y utilización de estas.

En particular, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que puede aislarse y/o purificarse, que comprende, consiste esencialmente en o consiste en la siguiente fórmula estructural (I):

$$(X^0)_p\,(X^1)_q\,(X^2)_r\,X^3\,X^4\,X^5\,X^6\,X^7\,X^8\,X^9\,X^{10}\,X^{11}\,X^{12}\,(X^{13})_s\,(X^{14})_t\,(X^{15})_u \quad \text{(I)},$$

o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

X^0 representa un grupo de la fórmula (IIa)



(IIa)

donde

* marca el enlace a un grupo amino terminal del aminoácido adyacente,

A es un enlace o alquileno C_1-C_6, donde un grupo CH2 del alquileno C_1-C_6 puede intercambiarse por -O- o -S-, y donde el alquileno C_1-C_6 se sustituye hasta tres veces de la misma o de distinta forma por un radical seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, metoxi, etoxi, carboxi, amino y halógeno,

B está ausente, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_3-C_8 o heterocicloalquilo C_3-C_7,

donde el arilo, el heteroarilo, el cicloalquilo C_3-C_8 y el heterocicloalquilo C_3-C_7 se sustituye hasta tres veces de la misma o de distinta forma por un radical seleccionado del grupo de alquilo C_1-C_4, hidroxilo, metoxi, etoxi, carbonilo, carboxi, amino y halógeno, y

R^1 es hidrógeno, halógeno, amino, hidroxilo o alquilo C_1-C_{20}, donde el alquilo C_1-C_{20} se sustituye hasta tres veces de la misma o de distinta forma por un radical seleccionado del grupo formado por hidroxilo, carboxi, amino y halógeno,

p representa el número entero 0 o 1,

X^1 representa cualquier aminoácido natural o un aminoácido no natural, mientras que cualquier aminoácido natural y/o aminoácido no natural puede estar en estereoconfiguración D o L,

y en el caso de que p sea 0 y q sea diferente de 0, el grupo amino terminal de X^1 es no sustituido, acetilado o mono- o disustituido con alquilo C_1-C_{20},

q representa un número entero de 0 a 5,

X^2 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en I, L, M, V y A, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilisoleucina ((N-Me)I), alo-L-isoleucina (alo-I), L-ciclobutilalanina (Cba), L-norvalina (Nva), ácido L-2-aminobutírico (Abu), (2S,3S)-2-[(3R)-3-amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S,3S)-2-[2-Oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico, L-metionin-L-sulfóxido, L-metionin-sulfona y L-*tert*-butilglicina,

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

y en el caso de que p y q sean 0 y r sea 1, el grupo amino terminal de X^2 es no sustituido, acetilado o mono- o disustituido con alquilo C_1-C_{20},

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-penicilamina (Pen) y L-N-metilcisteína ((N-Me)C),

y en el caso de que p, q y r sean 0, el grupo amino terminal de X^3 es no sustituido, acetilado o mono- o disustituido con alquilo C_1-C_{20},

X^4 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S, C, T, R o K, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-Treonina (alo-T), L-Homoserina (hSer) y L-Ornitina (Orn),

X^5 representa el aminoácido natural R o N(5)-metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S, C o T, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-Treonina (alo-T) y ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap),

X^7 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en L, F o N o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic), L-4-Bromofenilalanina ((4-Bromo)F), 2,5-Difluoro-L-fenilalanina ((2,5-Difluoro)F), L-*tert*-butilalanina ((tBu)A), 2-cloro-L-fenilalanina ((2-Cloro)F), L-2-bromofenilalanina ((2-Bromo)F), ácido (S)-2-(Amino)-1,6-hexanedioico (AAD), (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, ácido L-2-amino-4-cianobutírico (Cnba), 4-Fluoro-Leucina ((4-Fluoro)L), (S)-(trifluorometil)-L-cisteína, ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)-propanoico, L-tert-Butilglicina ((tBu)G), 3-(Trimetilsilil)-L-alanina, 2,5-difluoro-L-fenilalanina, ácido 2-amino-7-(terc-butoxi)-7-oxoheptanoico, 5,5,5-trifluoro-L-leucina ((Trifluoro)L), 2-metil-L-fenilalanina ((2-Me)F), L-ciclobutilalanina (Cba), L-ciclopentilalanina (Cpa), L-ciclopropilmetilalanina, L-trifluorometilalanina, L-difluorometilalanina, 2-Fluoro-L-fenilalanina ((2-Fluoro)F), ácido (2S)-3-

(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico, ácido (2S)-3-(3-Cianofenil)-2-aminopropanoico, y ácido (2S)-3-(indol-4-il)-2-(amino)propanoico,

X^8 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico, L-hidroxiprolina (Hyp), (3S)-morfolina-3-carboxílico (Morfolina-3-carboxílico), ácido L-pipecólico (Pip), (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2, ácido 3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepina-9-carboxílico, trans-4-fluoroprolina ((trans-4-Fluoro)P) y ácido (1R,2S,5S)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-carboxílico,

X^9 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic), L-Hidroxiprolina (Hyp), (2S,4S)-4-Trifluorometil-pirrolidina-2-carboxílico ((4-CF3)P), (2S,4S)-4-fluoroprolina ((cis-4-Fluoro)P), trans-4-fluoroprolina ((trans-4-Fluoro)P), ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, L-trans-3-hidroxiprolina ((3S-OH)P, ácido (1R,3S,5R)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (6S)-5-azabiciclo[2.4]heptano-6-carboxílico, ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico, trans-4-fluoroprolina ((trans-4-Fluoro)P), (2S,4S)-4-fluoroprolina ((cis-4-Fluoro)P), L-4,4-difluoroprolina ((Difluoro)P), ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1) y ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2),

X^{10} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-ciclopentilglicina (Cpg), L-ciclohexilglicina (Chg), ácido (S)-2-amino-3-etil-pentanoico, 3-Clorofenilglicina ((3-Cloro-F)G), L-terc-butilglicina, alo-L-isoleucina (alo-I),

L-ciclobutilglicina, L-norvalina (Nva) y ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético,

X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-isoleucina (alo-I), ácido (S)-2-amino-2-ciclobutilacético (Cbg), ácido (2S,3S)-2-((amino)metil)-3-metilpentanoico, L-fenilglicina (Phg), ácido 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-carboxílico, 2-metil-D-alloisoleucina, L-norvalina (Nva), ácido L-2-aminobutírico (Abu), L-terc-butilglicina y ácido aminoisobutírico (Aib),

y en el caso de que u, t y s sean 0, el grupo carboxilo terminal de X^{12} no se sustituye ni se amida,

X^{13} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en P, A, S, T, G, D, E, Q o N o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-metil-glicina ((N-Me)G), ácido 5-azaspiro[2.4]heptan-6-carboxílico, ácido L-2-aminobutírico (Abu), ácido 2-aminoisobutírico (Aib), 2-metil-L-prolina (2-Me)P, hidroxiprolina (Hyp), ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), trans-4-fluoroprolina ((trans-4-Fluoro)P), (2S,4S)-4-fluoroprolina ((cis-4-Fluoro)P), L-4,4-difluoroprolina ((Difluoro)P), L-ciclopentilglicina (Cpg), ácido (S)-2-amino-2-ciclobutilacético (Cbg) y ácido (2S)-pirrolidin-2-ilacético (beta-homo-P),

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

y en el caso de que u y t sean 0 y s sea diferente de 0, el grupo carboxilo terminal de X^{13} no se sustituye ni se amida,

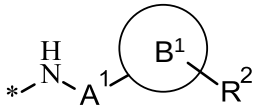
s representa un número entero de 0 a 3,

X^{14} representa cualquier aminoácido natural o un aminoácido no natural, mientras que cualquier aminoácido natural y/o aminoácido no natural puede estar en estereoconfiguración D o L,

y en el caso de que u sea 0 y t sea diferente de 0, el grupo amino terminal de X^{14} no se sustituye ni se amida,

t representa un número entero de 0 a 4,

X^{15} representa un grupo de la fórmula (IIa)



(IIb)

donde

* marca el enlace a un grupo carboxilo terminal del aminoácido adyacente,

A^1 es un enlace o alquileno C_1-C_6, donde un grupo CH_2 del alquileno C_1-C_6 puede intercambiarse por -O- o -S-, y donde el alquileno C_1-C_6 se sustituye hasta tres veces de la misma o de distinta forma por un radical seleccionado del grupo que consiste en hidroxilo, metoxi, etoxi, carboxi, amino y halógeno,

B^1 está ausente, arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_3-C_8 o heterocicloalquilo C_3-C_7,

donde el arilo, el heteroarilo, el cicloalquilo C_3-C_8 y el heterocicloalquilo C_3-C_7 se sustituye hasta tres veces de la misma o de distinta forma por un radical seleccionado del grupo de alquilo C_1-C_4, hidroxilo, metoxi, etoxi, carbonilo, carboxi, amino y halógeno, y

R^2 es hidrógeno, halógeno, amino, hidroxilo o alquilo C_1-C_{20}, donde el alquilo C_1-C_{20} se sustituye hasta tres veces de la misma o de distinta forma por un radical seleccionado del grupo formado por hidroxilo, carboxi, amino y halógeno,

u representa el número entero 0 o 1,

con la condición de que al menos uno de X^1 a X^{14} sea un aminoácido no natural.

La invención da a conocer además compuestos que contienen un péptido de la fórmula (II) que se presenta a continuación,

$$(X^1)_q(X^2)_rX^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}(X^{13})_s(X^{14})_t \quad \text{(II)},$$

o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

X^1 representa un aminoácido natural o un aminoácido no natural,

q representa el número entero 0 o 1,

X^2 representa el aminoácido natural I,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa el aminoácido natural S,

X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-Metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa el aminoácido natural S,

X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-terc-Butilalanina ((tBu)A),

X^8 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural L-Prolina (3,4-2H),

X^9 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic),

X^{10} representa el aminoácido natural I,

X^{11} representa un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen)

X^{12} representa el aminoácido natural I,

X^{13} representa el aminoácido natural P,

s representa el número entero 0 o 1,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q y E,

t representa el número entero 0 o 1,

donde el terminal N del péptido no es sustituido, acetilado ni mono- o disustituido con alquilo C_1-C_{20},

donde el C-terminal del péptido no se sustituye ni se amida, y

donde el péptido se somete a una ciclización, preferentemente a través de un enlace que conecta X^3 y X^{11}.

A menos que se defina lo contrario en la presente, los términos científicos y técnicos utilizados en esta solicitud tendrán los significados que los expertos en la técnica suelen comprender. En general, la nomenclatura utilizada en relación con la química, la biología molecular, la biología celular y del cáncer, la inmunología, la microbiología, la farmacología y la química de las proteínas y de los ácidos nucleicos, así como las técnicas que se describen en la presente, se conocen bien y se utiliza con frecuencia en la técnica.

En toda esta especificación, la palabra “comprender” o las variaciones de esta, como “comprende” o “comprenden”, implican la inclusión de un número entero (o componentes) o un grupo de enteros (o componentes) indicados, pero no la exclusión de ningún otro número entero (o componentes) ni un grupo de enteros (o componentes). Las formas singulares “un”, “una”, “el” y “la” incluyen los plurales, a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Los términos “incluido” y “que contiene” se utilizan para expresar “incluye, a mero título enunciativo”, expresiones que pueden utilizarse de manera indistinta. En particular, la expresión “compuesto que contiene un péptido” significa un compuesto que contiene una secuencia peptídica definida y que, opcionalmente, puede contener otros grupos químicos o sustitutos unidos covalentemente al péptido, por ejemplo, aminoácidos, ácidos grasos, grupos químicos para mejorar las propiedades farmacodinámicas o farmacocinéticas del péptido o cualquier otro grupo químico. También se debe comprender que la expresión “compuesto que

contiene un péptido" incluye explícitamente la secuencia peptídica definida sin ningún otro grupo químico o sustituto unido covalentemente a ese péptido.

Tal como se utilizan en la presente, los términos que se presentan a continuación tienen el significado que se les atribuye, a menos que se especifique lo contrario. "Que consiste esencialmente en" significa un péptido que sea al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, o al menos un 99% idéntico al péptido con el que se compara.

Los términos "proteína", "polipéptido" y "péptido" se utilizan indistintamente para referirse en general a una secuencia de dos o más aminoácidos unidos entre sí, preferentemente por enlaces peptídicos (amídicos). Los enlaces peptídicos (amídicos) se forman cuando el grupo carboxilo de un aminoácido reacciona con el grupo amino de otro. Además, debe comprenderse que los términos "proteína", "polipéptido" y "péptido" no indican una longitud específica de un polímero de aminoácidos, ni se pretende implicar o distinguir si el polipéptido se produce mediante técnicas de recombinación, síntesis química o enzimática, o si se produce de forma natural. Debe comprenderse, además, que un péptido puede contener una o más partes que no son aminoácidos según la definición de la presente solicitud. Estas partes están preferentemente presentes en los extremos terminales N y C del péptido.

El término "aminoácido" o "cualquier aminoácido", tal como se utilizan en la presente, se refieren a los compuestos orgánicos que contienen grupos funcionales amina ($-NH_2$) y carboxilo (-COOH), junto con una cadena lateral, y se refieren a todos y cada uno de los aminoácidos, incluidos los aminoácidos naturales (por ejemplo, α-L-aminoácidos), los aminoácidos no naturales, los aminoácidos modificados y los aminoácidos innaturales. Los "aminoácidos naturales" incluyen los que se encuentran en la naturaleza, como, por ejemplo, los 23 aminoácidos que se combinan en cadenas peptídicas para formar la base de una amplia gama de proteínas. Se trata principalmente de estereoisómeros L, aunque algunos aminoácidos D se encuentran en las envolturas de las bacte-

rias y en algunos antibióticos. Los 20 aminoácidos naturales proteinogénicos del código genético estándar se enumeran en la Tabla 2. Los aminoácidos naturales "no estándar" son la pirrolisina (que se encuentra en los organismos metanogénicos y otros eucariotas), la selenocisteína (presente en muchos no eucariotas y en la mayoría de los eucariotas) y la N-formilmetionina (codificada por el codón de iniciación AUG en las bacterias, mitocondrias y cloroplastos).

Los aminoácidos "no naturales" o "innaturales" son aminoácidos no proteinogénicos (es decir, los que no están codificados naturalmente o se encuentran en el código genético) que se producen de forma natural o se sintetizan químicamente. Se conocen más de 140 aminoácidos naturales y es posible lograr miles de combinaciones más. Los aminoácidos "no naturales" pueden ser los β-aminoácidos (β^3 y β^2), homoaminoácidos, derivados de la prolina y el ácido pirúvico, derivados de la alanina 3-sustituida, derivados de la glicina, derivados de la fenilalanina y la tirosina sustituidos por anillos, aminoácidos de núcleo lineal, diaminoácidos, D-aminoácidos y N-metilaminoácidos. Los aminoácidos no naturales o innaturales también incluyen los aminoácidos modificados. Los aminoácidos "modificados" incluyen los aminoácidos (por ejemplo, los aminoácidos naturales) que han sido modificados químicamente para incluir un grupo, grupos o fracciones químicas que no están presentes de forma natural en el aminoácido. Según la presente invención, los aminoácidos no naturales preferentes se enumeran en la Tabla 1. La Tabla 1 muestra los aminoácidos no naturales como estereoisómeros D y/o L; sin embargo, los aminoácidos no naturales preferentes según la invención son estereoisómeros D y L de los aminoácidos no naturales que se enumeran en la Tabla 1.

Tabla 1: Aminoácidos preferentes no naturales

Ácido (1R,2R)-2-Amino-1-ciclopentancarboxílico (R,R-ACPC)
Ácido (1R,3S)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico
Ácido (1R,3S,5R)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico
Ácido (1S,2S)-2-Amino-1-ciclopentancarboxílico (S,S-ACPC)

Ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico
Ácido (1R,2S,5S)-3-Azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico
Ácido (1S,3R)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico
Ácido (1S,3R)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico
Ácido (1S,3R,4R)-2-Azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico
Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético
Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3S)-3-hidroxiciclohexil]acético
Ácido (2R)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético
Ácido (2S)-2-Amino-5-metil-hexanoico
Ácido (2S)-2-[(3R)-3-Amino-2-oxopirrolidin-1-il]-4-metilpentanoico
Ácido (2S)-2[(amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)]acético
Ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico
Ácido (2S)-2-amino-3-(2,3,4,5,6-pentafluorofenil)propanoico
Ácido (2S)-2-amino-3-(4-tert-butilfenil)propanoico
Ácido (2S)-2-Amino-4-(benzilamino)-4-oxobutancarboxílico
Ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico
Ácido (2S)-2-Amino-5-metil-hexanoico
Ácido (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico
Ácido (2S)-3-(3-Cianofenil)-2-aminopropanoico
Ácido (2S)-3-(4-carboxifenil)-2-aminopropanoico
Ácido (2S)-3-(indol-4-il)-2-(amino)propanoico
Ácido (2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico
Ácido (2S)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético
Ácido (2S)-Amino-2-[3-(Trifluorometil)biciclo[1,1,1]pent-1-il]acético
Ácido (2S)-Pirrolidin-2-ilacético (beta-homo-P)
Ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico
Ácido (2S,3S)-2-((Amino)metil)-3-metilpentanoico
Ácido (2S,3S)-2-[(3R)-3-Amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico

Ácido (2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico
(2S,4S)-4-fluoroprolina ((cis-4-Fluoro)P)
Ácido (2S,4S)-4-Trifluorometil-pirrolidin-2-carboxílico ((4-CF3)P)
Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1)
Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2)
Ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico
Ácido (6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico
Ácido (R)-3-Aminoadípico
Ácido (R)-4-Amino-6-metilheptanoico
Ácido (R)-Piperidin-3-carboxílico
Ácido (R)-Pirrolidin-3-carboxílico
Ácido (S)-(1-Piperidin-3-il)-acético
(S)-(trifluorometil)-L-cisteína
Ácido (S)-2-(Amino)-1,6-hexanedioico (AAD)
Ácido (S)-2-Amino-2-cyclobutilacético (Cbg)
Ácido (S)-2-Amino-3-etil-pentanoico
Ácido (S)-3-(1-Pirrolidin-2-il)-propiónico
Ácido (S)-4-Piperazin-2-carboxílico
Ácido (S)-Piperidin-3-carboxílico
Ácido (S)-Pirrolidin-2-carboxílico (beta-P)
Ácido [(2R)-4,4-Difluoropirrolidin-2-il]acético
Ácido 1-(Aminometil)-ciclopropil-1-carboxílico
Ácido 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridecan-succinámico
Ácido 12-Amino-4,7,10-trioxadodecanoico
Ácido 14-Amino-3,6,9,12-tetraoxatetradecanoico
Ácido 15-Amino-4,7,10,13-tetraoxa(Pen)tadecanoico

Ácido 17-Amino-3,6,9,12,15-(Pen)taoxaheptadecanoico
Ácido 18-Amino-4,7,10,13,16-(Pen)taoxaoctadecanoico
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21,24,27-nonaoxatriacontan-30-oico
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxaheptacosan-27-oico
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatetracosan-24-oico
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oico
Ácido 1-Aminociclobutan-1-carboxílico (ACBA)
1-Benzil-L-histidina (H(1-Bn))
1-Metil-L-histidina (H(1-Me))
Ácido 2-(Ciclohexilamino)acético
Ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic)
2,5-difluoro-L-fenilalanina
Ácido 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-carboxílico
Ácido 2-Amino-1,7-heptanedioico
Ácido 2-Amino-5,5,5-trifluoro-4-metil-pentanoico
Ácido 2-Amino-7-(*tert*-butoxi)-7-oxoheptanoico
Ácido 2-Aminoisobutírico (Aib)
2-Cloro-L-fenilalanina ((2-Cloro)F)
2-Fluoro-L-fenilalanina ((2-Fluoro)F)
2-Metil-D-aloisoleucina
2-Metil-L-fenilalanina ((2-Me)F)
2-Metil-L-Prolina (2-Me)P,
3-(1,3-Benzotiazol-2-il)-L-alanina ((Bth)A)
Ácido 3-(Aminometil)benzoico
3-(Trimetilsilil)-L-alanina
Ácido 3-Amino-2,2-dimetilpropionico
Ácido 3-Aminometilfenilacético
3-Azido-L-Alanina

3-Carboxifenilalanina
3-Cloro-L-Fenilalanina
3-Clorofenilglicina ((3-Cloro-Ph)G)
3-Ciano-L-fenilalanina
3-Etil-L-Norvalina
3-Fluoro-L-fenilalanina
3-Metil-L-fenilalanina
4-(3,5-Dimetil-1,2-oxazol-4-il)-L-fenilalanina
Ácido 4-(Aminometil)benzoico
Ácido 4-Aminometilfenilacético
4-Etil-L-norleucina
4-Fluoro-Leucina ((4-Fluoro)L)
4-Fluoro-L-fenilalanina ((4-Fluoro)F)
5,5,5-Trifluoro-L-leucina ((Trifluoro)L)
Ácido 5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico
Ácido 6-Aminohexanoico (Ahx)
8-aminocubano-1-ácido carboxílico
Ácido 9-Amino-4,7-dioxanonanoico
alo-L-Isoleucina (alo-I)
alo-L-Treonina (alo-T)
Ácido aminociclobutancarboxílico (ACBC)
Ácido Aminoisobutírico (Aib)
Beta-Alanina (beta-A)
Ciclohexilalanina (Cha)
D-2-Clorofenilalanina
D-beta-Prolina
D-ciclohexilalanina
D-Hidroxiprolina

D-N-Metilalanina
Ácido Gamma-Aminobutírico (Gamma-Abu)
Hidroxiprolina (Hip)
Ácido iminodiacético
L-Homoserina (hSer)
L-1-Naptilalanina (1-Nal)
Ácido L-2,3-Diaminopropiónico (Dap)
Ácido L-2,4-Diaminobutírico (Dab)
L-2,6-Difluorofenilalanina
Ácido L-2-Amino-4-cianobutírico
Ácido L-2-Aminobutírico (Abu)
L-2-Bromofenilalanina ((2-Bromo)F)
L-2-Naptilalanina (2-Nal)
L-2-Piridilalanina (2-Pal)
L-2-Tienilalanina
L-3-Bromofenilalanina ((3-Bromo)F)
L-3-Metilhistidina (H(3-Me))
L-3-Piridilalanina (3-Pal)
L-4,4-difluoroprolina ((Difluoro)P)
L-4-Aminofenilalanina ((4-Amino)F)
L-4-Bromofenilalanina
L-4-Piridilalanina
L-Citrulina (Cit)
L-Ciclobutilalanina (Cba)
L-Ciclobutilglicina
L-Ciclohexilalanina
L-Ciclohexilglicina
L-Ciclohexilglicina (Chg)

L-Ciclopentilalanina
L-ciclopentilalanina (Cpa)
L-Ciclopentilglicina (Cpg)
L-Ciclopropilmetilalanina
L-Difluorometilalanina
Ácido L-Dihidroorótico (Hoo)
L-Homocisteína
L-Hidroxiprolina (Hyp)
L-Metionina-L-sulfóxido
L-Metionina-sulfona
L-N,N-Dimetilalanina ((N,N-diMe)A)
L-N-Metilalanina
L-N-Metilcisteína ((N-Me)C)
L-N-Metilisoleucina ((N-Me)I)
L-N-Metilfenilalanina ((N-Me)F)
L-Norleucina (Nle)
L-Norvalina (Nva)
L-Ornitina (Orn)
L-Penicilamina (Pen)
L-Fenilglicina (Phg)
Ácido L-Pipecólico (Pip)
L-Propargilglicina
Ácido L-Piroglutámico (Pyr)
L-*tert*-Butilalanina ((tBu)A)
L-*tert*-Butilglicina ((tBu)G)
L-*trans*-3-Hidroxiprolina ((3S-OH)P)
L-Trifluorometilalanina
Ácido Morfolin-3-carboxílico

N(5)-metil-L-arginina ((Me)R)
N-e-Isopropil-L-lisina
N-Metil-Alanina (N-Me)A
N-Metil-Glicina ((N-Me)G)
N-Fenilglicina ((N-Ph)G)
Ácido palmítico (Palm)
Ácido rel-(1R,2S)-2-Amino-1-ciclopentancarboxílico (ACPC)
Ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(Trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico
Ácido rel-(1R,3S)-3-[(Amino)metil]ciclohexanecarboxílico
Ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1)
Ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2)
Ácido S-2-amino-3-etil-pentanoico
Ácido S-3-1-Pirrolidin-2-il-propiónico
Ácido tranexámico (tranexámico)
Ácido *trans*-2-(3-(Amino)ciclohexil)acético
trans-4-Fluoroprolina ((*trans*-4-Fluoro)P)
Ácido 3-Amino-3-metilbutírico

Se seleccionan aminoácidos no naturales más preferentes de una lista que consiste en N-Metil-Alanina (N-Me)A, N-Metil-Glicina ((N-Me)G), ácido (1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico, L-3-Bromofenilalanina ((3-Bromo)F), L-N,N-Dimetilalanina ((N,N-diMe)A), N,N-Dimetilglicina ((N, N-diMe)G), N-Fenilglicina ((N-Ph)G), ácido (R)-Piperidina-3-carboxílico, ácido (S)-Piperidina-3-carboxílico, L-*tert*-Butilalanina ((tBu)A), L-2-Piridilalanina (2-Pal), L-3-Piridilalanina (3-Pal), L-4-Piridilalanina (4-Pal), ácido 3-(Aminometil)benzoico, ácido 3-Amino-2,2-dimetilpropiónico, ácido 3-Amino-3-metilbutírico, ácido 4-

(Aminometil)benzoico, ácido L-2-Aminobutírico (Abu), ácido 1-Aminociclobutano-1-carboxílico (ACBA), ácido 6-Aminohexanoico (Ahx), ácido 2-Aminoisobutírico (Aib), L-2-Tienilalanina (beta-2-tienilalanina), beta-Alanina (beta-A), beta-Prolina (beta-P), L-Citrulina (Cit), ácido L-2,4-Diaminobutírico (Dab), ácido L-2,3-Diaminopropiónico (Dap), ácido Gamma-Aminobutírico (Gamma-Abu), L-3-Metilhistidina (3-Me)H), ácido L-Dihidroorótico (Hoo), L-Norleucina (Nle), N-Metil-L-prolina ((N-Me)P), L-Norvalina (Nva), L-Ornitina (Orn), ácido L-Pipecólico (Pip), ácido (2S)-2[(Amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)]acético; ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic), L-N-Metilcisteína ((N-Me)C), N(5)-metil-L-arginina ((Me)R), L-Penicilamina (Pen) y ácido Tranexámico (Tranexámico).

Se seleccionan los aminoácidos no naturales más preferentes de una lista que consiste en N-metil-L-alanina (N-Me)A, N-Metil-Glicina ((N-Me)G), L-Norleucina (Nle), L-Norvalina (Nva), L-Ornitina (Orn), N(5)-metil-L-arginina ((Me)R), L-*tert*-Butilalanina ((tBu)A), ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic), L-N-Metilcisteína ((N-Me)C) y L-Penicilamina (Pen).

Debe comprenderse, además, que un péptido según la invención puede contener uno o más grupos químicos que no son aminoácidos, según la definición de la presente invención. Estos grupos químicos pueden estar presentes en los extremos terminales N y/o C de un péptido y están representados por la fórmula X^0 y X^{15}. Debe comprenderse que todos los aminoácidos y grupos químicos de los péptidos de la presente invención están unidos por medio de enlaces peptídicos (amídicos). Por lo general, los péptidos se forman al unir grupos amínicos α y carboxílicos de aminoácidos α, que luego se unen mediante enlaces peptídicos α. Según la presente invención, un enlace peptídico puede estar formado por cualquier grupo carboxilo y amino que se encuentre en un aminoácido natural o no natural correspondiente. Por ejemplo, los aminoácidos α que contienen un segundo grupo amino además del grupo amino α (por ejemplo, L-lisina) o los aminoácidos α que, además del grupo carboxilo α, contienen

un segundo grupo carboxilo, (por ejemplo, L-ácido aspártico y L-ácido glutámico) pueden unirse mediante el grupo amino o carboxilo adicional.

Según la comprensión de un experto en la técnica, las secuencias peptídicas reveladas en la presente representan secuencias de aminoácidos, que están unidas mediante enlaces peptídicos α. Los aminoácidos unidos mediante un enlace peptídico, que no son enlaces peptídicos α, están marcados con un "*". El "*" está a la izquierda o a la derecha del aminoácido, para ilustrar si el grupo amino adicional o el grupo carboxilo adicional de ese aminoácido se utiliza para el enlace peptídico con el aminoácido adyacente (por ejemplo, (*L), (E*), (*Dap) etc.).

Según la comprensión de un experto en la técnica, las secuencias peptídicas que se divulgan en la presente se muestran de izquierda a derecha: el extremo izquierdo de la secuencia es el "N-terminal" ("terminal amino", "extremo N-terminal") del péptido y el extremo derecho de la secuencia el "C-terminal" ("terminal carboxi", "extremo C-terminal") del péptido. Estos términos "N-terminal" ("terminal amino", "extremo N-terminal" se aplican independientemente de si el péptido contiene un grupo amino en el N-terminal. Estos términos "C-terminal" ("terminal carboxi", "extremo C-terminal" se aplican independientemente de si el péptido contiene un grupo carboxi en el C-terminal. El término "grupo amino terminal" se refiere a cualquier grupo amino presente en el N-terminal. El término "grupo carboxi terminal" se refiere a cualquier grupo carboxilo presente en el extremo C-terminal.

Según la presente invención, el N-terminal puede estar formado por X^0, en el caso de que p represente 1. Alternativamente, el N-terminal puede estar formado por X^1, en el caso de que q represente al menos 1 y p represente 0. Alternativamente, el N-terminal puede estar formado por X^2, en el caso de que r represente 1 y p y q representen 0. En el caso de que p, q y r representen 0, el N-terminal se forma por X^3 en el caso de que el péptido sea lineal. En el caso de que el péptido de la presente invención se someta a ciclización mediante un

enlace que una X^3 y X^{11}, y p, q y r representen 0, el péptido no comprende un N-terminal.

Según la presente invención, el C-terminal puede estar formado por X^{15}, en caso de que u represente 1. Alternativamente, el C-terminal puede estar formado por X^{14}, en el caso de que t represente un número entero de al menos 1 y u represente 0. Alternativamente, el C-terminal puede estar formado por X^{13}, en el caso de que se represente 1 y t y u representen 0. En el caso de que s, t y u representen 0, el C-terminal se forma por X^{12}.

En la presente invención, los nombres de los residuos de aminoácidos que se producen de forma natural y los que no se producen de forma natural que se utilizan en la presente preferentemente siguen las convenciones de denominación sugeridas por la Comisión de la IUPAC sobre la Nomenclatura de la Química Orgánica y la Comisión de la IUPAC-IUB sobre la Nomenclatura Bioquímica, tal y como se establece en *Nomenclature of α-Amino Acids (Recommendations, 1974), Biochemistry, 14(2), (1975)*.

En la presente especificación, los aminoácidos proteinogénicos naturales se designan normalmente con sus abreviaturas convencionales de una sola letra. También se puede hacer referencia a ellos con sus abreviaturas de tres letras (por ejemplo, en particular en las listas de secuencias) o por su nombre completo, como se muestra en la Tabla 2 a continuación:

Tabla 2: Abreviaturas estándar de los aminoácidos naturales

De 3 letras	**De 1 letras**	**Aminoácido**
Ala	A	Alanina
Arg	R	Arginina
Asn	N	Asparagina
Asp	D	Ácido aspártico
Cys	C	Cisteína

De 3 letras	**De 1 letras**	**Aminoácido**
Leu	L	Leucina
Lys	K	Lisina
Met	M	Metionina
Phe	F	Fenilalanina
Pro	P	Prolina

Glu	E	Ácido glutámico	Ser	S	Serina
Gln	Q	Glutamina	Thr	T	Treonina
Gly	G	Glicina	Trp	W	Triptófano
His	H	Histidina	Tyr	Y	Tirosina
Ile	I	Isoleucina	Val	V	Valina

En el caso de los aminoácidos no proteinogénicos o innaturales, a menos que se los mencione con su nombre completo (por ejemplo, ornitina), con frecuencia se utilizan códigos de tres a seis caracteres para los residuos de estos, incluidas las abreviaturas que se indican en la lista de abreviaturas que se presenta a continuación (Tabla 3).

El término “L-aminoácido”, tal como se utiliza en la presente, se refiere a la forma isomérica “L” de un aminoácido y, a la inversa, el término “D-aminoácido” se refiere a la forma isomérica “D” de un aminoácido. Esta es además una manera convencional de escribir el aminoácido L con mayúsculas, tales como Ala/A, Arg/R, etc. y el aminoácido D con minúsculas, tales como ala/a, arg/r, etc.

Los códigos de tres letras en la forma que se indican en la Tabla 2 de arriba, es decir, Ala, Arg, Asn, etc. y tal como se utilizan generalmente en la presente especificación, comprenderán en general las formas D y L, así como las homoformas y norformas, a menos que se indique explícitamente lo contrario. El prefijo “nor” se refiere a un análogo estructural que puede derivarse de un compuesto original mediante la eliminación de un átomo de carbono junto con los átomos de hidrógeno que lo acompañan. El prefijo “homo” indica el siguiente miembro superior de una serie homóloga. La referencia a una forma isomérica específica se indicará con el prefijo en mayúsculas L- o D-, conforme se describe arriba (por ejemplo, D-Arg, L-Arg, etc.). Por consiguiente, una referencia específica a homoformas o norformas se indicará explícitamente con un prefijo

respectivo (por ejemplo, homo-Arg, homo-R, nor-Arg, nor-R, homo-Cys, homo-C, etc.).

El término “alquilo C_1-C_6” significa un grupo de hidrocarburos lineal o ramificado, saturado y monovalente que tiene 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono, por ejemplo, un metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo, isobutilo, *tert*-butilo, pentilo, isopentilo, 2-metilbutilo, 1-metilbutilo, 1-etilpropilo, 1,2-dimetilpropilo, neo-pentilo, 1,1-dimetilpropilo, hexilo, 1-metilpentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 4-metilpentilo, 1-metilbutilo, 2-metilbutilo, 1,1-dimetilbutilo, 2,2-dimetilbutilo, 3,3-dimetilbutilo, 2,3-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo o 1,3-dimetilbutilo grupo, o un isómero de este. En particular, dicho grupo tiene 1, 2, 3 o 4 átomos de carbono (“alquilo C_1-C_4”), por ejemplo, un grupo de metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo isobutilo, o *tert*-butilo, más particularmente 1, 2 o 3 átomos de carbono (“alquilo C_1-C_3”), por ejemplo, un grupo de metilo, etilo, n-propilo o isopropilo. Particularmente se prefiere el metilo, el etilo y el n-propilo. El más preferente es el metilo.

El término “alquilo C_1-C_{20}” significa un grupo de hidrocarburos lineal o ramificado, saturado, monovalente que tiene 1 a 20 átomos de carbono, p. ej. un metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, *sec*-butilo isobutilo, *tert*-butilo o pentilo, isopentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, isoheptilo, octilo e isooctilo, nonilo, decilo, dodecilo o eicosilo.

El término “alquileno C_1-C_4” significa un puente de hidrocarburos de cadena normal o ramificada que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, metileno, etileno, propileno, (α-metiletileno, β-metiletileno, α-etiletileno, β-metiletileno, butileno, α-metilpropileno, β-metilpropileno y γ-metilpropileno.

El término “alquileno C_1-C_6” significa un puente de hidrocarburos de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, metileno, etileno, propileno, (α-metiletileno, β-metiletileno, α-etiletileno, β-etiletileno, butileno, α-metilpropileno, β-metilpropileno, γ-metilpropileno, α-metilpropileno, γ-metilpropileno, β-metilpropileno, γ-etilpropileno, pentileno y hexileno.

El término “cicloalquilo C_3-C_8” significa un anillo de hidrocarburos saturados que contiene 3, 4, 5, 6, 7 u 8 átomos de carbono. Dicho grupo cicloalquilo C_3-C_8 es, por ejemplo, un anillo de hidrocarburos monocíclico, por ejemplo, un grupo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctílico, un anillo de hidrocarburos bicíclico, por ejemplo, un biciclo[4,2,0]octilo u octahidropentalenilo, o un grupo de anillos saturados puenteados o enjaulados, tales como el norborano o el adamantano y el cubano.

El término “heterocicloalquilo C_3-C_7” significa un heterociclo saturado de 4, 5, 6 o 7 que contiene uno o dos heteroátomos de anillo idénticos o diferentes de las series N, O y S; y es posible que dicho grupo heterocicloalquilo se una al resto de la molécula mediante cualquiera de los átomos de carbono o, si lo hubiere, un átomo de nitrógeno. Dicho grupo heterocicloalquilo C_3-C_7, sin limitarse a este, puede ser un anillo de 4 miembros, tales como azetidinilo, oxetanilo o tietanilo; o un anillo de 5 miembros, como tetrahidrofuranilo, 1,3-dioxolanilo, tiolanilo, pirrolidinilo, imidazolidinilo, pirazolidinilo, 1,1-dioxidotiolanilo, 1,2-oxazolidinilo, 1,3-oxazolidinilo o 1,3-tiazolidinilo; o un anillo de 6 miembros, tales como tetrahidropiranilo, tetrahidrotiopiranilo, piperidinilo, morfolinilo, ditianilo, tiomorfolinilo, piperazinilo, hexahidropirimidinilo, 1,3-dioxanilo, 1,4-dioxanilo o 1,2-oxazinanilo, por ejemplo, o un anillo de 7 miembros, como azepanilo, 1,4-diazepanilo o 1,4-oxazepanilo.

El término “arilo” significa un ciclo insaturado o parcialmente insaturado que tiene de 6 a 10 átomos de carbono. Los radicales arilos preferentes son el fenilo y el naftilo.

El término “heteroarilo” significa un anillo aromático monovalente, monocíclico, bicíclico o tricíclico que tiene 5, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13 o 14 átomos de anillo (un grupo de “5 a 14 heteroarilos”), particularmente 5, 6, 9 o 10 átomos de anillo, que contiene al menos un heteroátomo de anillo y opcionalmente uno, dos o tres heteroátomos de anillo más de la serie: N, O y/o S, y que se une mediante un átomo de anillo de carbono u opcionalmente mediante un átomo de anillo de nitrógeno (si la valencia lo permite). Dicho grupo heteroarílico puede ser un

grupo heteroarílico de 5 miembros, tales como tienilo, furanilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, triazolilo, tiadiazolilo o tetrazolilo; o un grupo heteroarilo de 6 miembros, tales como piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo o triazinilo; o un grupo heteroarilo tricíclico, tales como carbazolilo, acridinilo o fenazinilo; o un grupo de 9 miembros de heteroarilo, tales como benzofuranilo, benzotienilo, benzoxazolilo, benzisoxazolilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, benzotriazolilo, indazolilo, indolilo, isoindolilo, indolizinilo o purinilo; o un grupo de 10 miembros de heteroarilo, tales como quinolinilo, quinazolinilo, isoquinolinilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinoxalinilo o pteridinilo.

En general, y a menos que se indique lo contrario, los grupos heteroarilo o heteroarileno incluyen todas las formas isoméricas posibles de estos, por ejemplo: tautómeros e isómeros posicionales con respecto al punto de unión con el resto de la molécula. Por consiguiente, en algunos ejemplos ilustrativos no restrictivos, el término piridinilo incluye piridin-2-ilo, piridin-3-ilo y piridin-4-ilo; o el término tienilo incluye tien-2-ilo y tien-3-ilo.

De las secuencias que se revelan en la presente, hay secuencias que incorporan una fracción “-OH” o una fracción “-NH_2” en el terminal carboxi (C-terminal) de la secuencia. Una fracción “-OH” o una fracción “-NH_2” en el C-terminal de la secuencia indica un grupo hidroxilo o un grupo amino, que corresponde a la presencia de un grupo carboxilo o un grupo amido (-(C=O)-NH_2) en el C-terminal, respectivamente. En cada secuencia de la invención, una fracción C-terminal “-OH” puede ser sustituida por una fracción C-terminal “-NH_2”, a la que también se hace referencia como “C-terminal amidada” en la presente invención, y viceversa. Sin embargo, entre dichas alternativas se prefiere una fracción “-OH” de C-terminal.

El término “acetilado” (también abreviado “Ac”) se refiere a la protección del acetil de la fracción N-terminal mediante la acetilación del N-terminal de un péptido (el N-terminal del péptido es acetilado).

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

X^0 es un grupo químico seleccionado de la lista que consiste en ácido (1S,2S,4S)-Biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilacético, ácido (2,4-Dioxoimidazolidin-1-il)acético, ácido 2-(Tiomorfolin)acético ((2-Tiomorfolin)acetil), ácido 2-(N-Isopropil-N-metilamin)acético, ácido (S)-3-Metilvalérico ((S)-3-Metilpentanoico), ácido 2-(3-piridil)acético, ácido 2-(Ciclohexilamin)acético (2-(Ciclohexilamin)acetil), ácido 2-(Dietilamin)acético (2-(Dietilamin)acetil), ácido 2-(Morfolin)acético (2-(Morfolin)acetil), ácido 2-(N-Metil-N-ciclopropilamino)acético (2-(N-Metil-N-ciclopropilamin)acetil), ácido 2-(Piperidin)acético (2-(Piperidin)acetil), ácido 2-(Pirrolidin)acético (2-(Pirrolidin)acetil), ácido 2-Hidroxiacético (2-Hidroxiacetil), ácido 2-Hidroxiisobutírico (2-hidroxiisobutírico), ácido 3-(Aminometil)benzoico, ácido 3-Metoxipropiónico, ácido 4-(Aminometil)benzoico, ácido 4-Metilpentanoico (4-Metilvalérico), ácido 5-Corotiofen-carboxílico, ácido 1-(Aminometil)-ciclopropil-1-carboxílico (ACMP), ácido adípico, ácido (S)-Azetidin-2-carboxílico, ácido benzoico (benzoico), ácido 4-(3,5-dimetil-1,2-oxazol-4-ilo)-L-fenilalanina, ácido ciclobutancarboxílico (ciclobutancarboxílico), ácido 2-(ciclobutil)acético (ciclobutilacético), ácido ciclohexilacético (Ciclobutilacético), ácido ciclohexilacético (Ciclohexilacético), ácido ciclohexanecarboxílico (Ciclohexilcarboxílico), ácido ciclopentanecarboxílico, ácido ciclopentilacético (Ciclopentilacético), ácido ciclopropanocarboxílico, ácido ciclopropilacético, D-(+)Biotina, ácido fumárico, ácido 3-fenilpropanoico (hidrocinámico), ácido isobutírico, ácido isovalérico, ácido L-(+)-láctico (láctico), ácido fenilacético, ácido piperidin-4-ilacético, ácido piválico (Piválico), ácido subérico, ácido *tert*-butilacético, ácido tetrahidropiranil-4-acético, ácido tetrahidro-

2H-piran-3-ilacético y ácido trans-2-(3-((t-butoxi)carbonilamin)ciclohexil)acético),

p representa el número entero 0 o 1,

X^1 representa un aminoácido natural seleccionado de la lista que consiste en A, F, G, H, I, K, L, P, R, S, T, V, W e Y o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-Metil-Alanina (N-Me)A, N-Metil-Glicina ((N-Me)G), ácido (1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptan-3-carboxílico, L-3-Bromofenilalanina ((3-Bromo)F), L-N,N-Dimetilalanina ((N,N-diMe)A), N,N-Dimetilglicina ((N, N-diMe)G), N-Fenilglicina ((N-Ph)G), ácido (R)-Piperidina-3-carboxílico, ácido (S)-Piperidina-3-carboxílico, L-*tert*-Butilalanina ((tBu)A), L-2-Piridilalanina (2-Pal), L-3-Piridilalanina (3-Pal), L-4-Piridilalanina (4-Pal), ácido 3-(Aminometil)benzoico, ácido 3-Amino-2,2-dimetilpropiónico, ácido 3-Amino-3-metilbutírico, ácido 4-(Aminometil)benzoico, ácido L-2-Aminobutírico (Abu), ácido 1-Aminociclobutano-1-carboxílico (ACBA), ácido 6-Aminohexanoico (Ahx), ácido 2-Aminoisobutírico (Aib), L-2-Tienilalanina (beta-2-tienilalanina), beta-Alanina (beta-A), beta-Prolina (beta-P), L-Citrulina (Cit), ácido L-2,4-Diaminobutírico (Dab), ácido L-2,3-Diaminopropiónico (Dap), ácido Gamma-Aminobutírico (Gamma-Abu), L-3-Metilhistidina (3-Me)H), ácido L-Dihidroorótico (Hoo), L-Norleucina (Nle), N-Metil-L-prolina ((N-Me)P), L-Norvalina (Nva), L-Ornitina (Orn), ácido L-Pipecólico (Pip), ácido (2S)-2[(Amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)]acético y ácido Tranexámico (Tranexámico),

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

q representa un número entero de 0 a 5,

X^2 representa un aminoácido natural I o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilisoleucina ((N-Me)I), alo-L-isoleucina (alo-I), L-ciclobutilalanina (Cba), L-norvalina (Nva), ácido L-2-

aminobutírico (Abu), (2S,3S)-2-[(3R)-3-amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S,3S)-2-[2-Oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico,

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S, C, T, R y K,

X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa el aminoácido natural S, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-Treonina (alo-T) y ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap),

X^7 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en L y N, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 2,5-Difluoro-L-fenilalanina ((2,5-Difluoro)F), L-2-bromofenilalanina ((2-Bromo)F), 2-cloro-L-fenilalanina ((2-Cloro)F), L-4-bromofenilalanina ((4-Bromo)F), 4-fluoro-L-leucina ((4-Fluoro)L), L-*tert*-butilalanina ((tBu)A), L-*tert*-butilglicina ((tBu)G), 5,5,5-Trifluoro-L-leucina ((Trifluoro)L), ácido (S)-2-(Amino)-1,6-hexanedioico (AAD), ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, ácido L-2-amino-4-cianobutírico (Cnba), (S)-(trifluorometil)-L-cisteína, ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico, ácido (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico, ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic), ácido 3-(trimetilsilil)-L-alanina y ácido 2-amino-7-(*tert*-butoxi)-7-oxoheptanoico,

X^8 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en el ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico, ácido (1R,2S,5S)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico, ácido *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-Fluoro)P), L-hidroxiprolina (Hyp), ácido (3S)-morfolin-3-carboxílico (Morfolin-3-carboxílico), ácido L-pipecólico y ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-Oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico,

X^9 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic), ácido (6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico, ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S,4S)-4-trifluorometil-pirrolidin-2-carboxílico ((4-CF3)P), ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico, ácido (1R,3S,5R)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, L-*trans*-3-hidroxiprolina ((3S-OH)P, *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-Fluoro)P), L-hidroxiprolina (Hyp), (2S,4S)-4-fluoroprolina ((*cis*-4-Fluoro)P), ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1) y ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2),

X^{10} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético, 3-Clorofenilglicina ((3-Cloro-Ph)G), ácido (S)-2-amino-3-etil-pentanoico, alo-L-isoleucina (alo-I), L-ciclohexilglicina (Chg), L-ciclopentilglicina (Cpg), L-ciclobutilglicina y L-norvalina (Nva),

X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 2-ácido [(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-

1,3-oxazol-4-carboxílico, ácido (S)-2-amino-2-ciclobutilacético (Cbg), alo-L-isoleucina (alo-I), L-fenilglicina (Phg), ácido 2-metil-D-aloisoleucina y (2S,3S)-2-((amino)metil)-3-metilpentanoico,

y en el caso de que u, t y s sean 0, el grupo carboxilo terminal de X^{12} no se sustituye ni se amida,

X^{13} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en P, A y D o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 2-Metil-L-Prolina (2-Me)P, N-Metil-Glicina ((N-Me)G), *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-Fluoro)P), ácido L-2-aminobutírico (Abu), ácido 2-aminoisobutírico (Aib), hidroxiprolina (Hyp) y ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic),

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

y en el caso de que u y t sean 0 y s sea diferente de 0, el grupo carboxilo terminal de X^{13} no se sustituye ni se amida,

s representa un número entero de 0 a 3,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, E, G, K, N, P y Q o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 3-Carboxifenilalanina ((3-Carboxi)F), ácido (2S)-2-amino-4-(benzilamin)-4-oxobutancarboxílico ((N-Bencil)D), N-metil-Glicina ((N-Me)G), ácido 6-aminohexanoico (Ahx), ácido (2S)-pirrolidin-2-ilacético (beta-homo-P), ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap), L-ornitina (Orn) y ácido tranexámico (Tranexamic),

y en el caso de que u sea 0 y t sea diferente de 0, el grupo amino terminal de X^{14} no se sustituye ni se amida,

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

t representa un número entero de 0 a 4,

X^{15} es un grupo químico seleccionado de la lista que consiste en ácido (1R,3S)-3-(Amino)ciclopentanecarboxílico, ácido (1S,3R)-3-(Amino)-ciclopentanecarboxílico, ácido (R)-4-amino-6-metilheptanoico, ácido (S)-(1-Piperidin-3-il)-acético, ácido (S)-3-(1-Pirrolidina-2-il)-propiónico, ácido (S)-3-(2H-tetrazol-5-il)-propanoico, ácido (S)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido 5-Azaspiro[2.4]heptano-1-carboxílico y ácido (2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico,

u representa el número entero 0 o 1,

con la condición de que el péptido contenga al menos un aminoácido no natural.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

X^{0} es un grupo químico seleccionado de la lista que consiste en ácido (1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico, ácido (2-Tiomorfolin)acético, ácido (N-Isopropil-N-metilamino)acético, ácido 2-(3-piridil)acético, ácido 2-(ciclohexilamin)acético, ácido 2-(dietilamin)acético, ácido 2-(morfolin)acético, ácido 2-(piperidin)acético, ácido 2-(pirrolidin)acético, ácido 3-(aminometil)benzoico, ácido 4-(aminometil)benzoico, ácido 1-(aminometil)-ciclopropil-1-carboxílico (ACMP), ácido azetidin-2-carboxílico, ácido benzoico, ácido ciclobutílico, ácido ciclopropilacético, ácido fenilacético, ácido piperidin-4-ilacético, ácido tetrahidro-2H-pirano-3-ilacético, ácido tranexámico y ácido *trans*-2-(3-((t-butoxi)carbonilamino)ciclohexil)acético,

p representa el número entero 0 o 1,

X^{1} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en A, F, G, H, I, K, L, P, R, S, T, V, W e Y o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N,N-Dimetilalanina ((N,N-

diMe)A), N-metilalanina (N-Me)A, N-metil-glicina ((N-Me)G), L-2-piridilalanina (2-Pal), L-3-piridilalanina (3-Pal), L-4-piridilalanina (4-Pal), ácido L-2-aminobutírico (Abu), ácido 6-aminohexanoico (Ahx), ácido 2-aminoisobutírico (Aib), ácido 3-(aminometil)benzoico, ácido 3-amino-2,2-dimetilpropiónico, ácido 3-amino-3-metilbutírico, ácido 4-(Aminometil)benzoico, beta-2-tiilalanina, ácido (S)-pirrolidina2-carboxílico (beta-P), L-Citrulina (Cit), ácido L-2,4-diaminobutírico (Dab), ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap), ácido gamma-aminobutírico (Gamma-Abu), L-3-metilhistidina (H(3-Me)), ácido L-dihidroorótico (Hoo), L-norleucina (Nle), L-norvalina (Nva), L-ornitina (Orn), ácido L-pipecólico (Pip), N-metil-L-prolina ((N-Me)P), ácido tranexámico (Tranexamic), ácido (1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico y ácido (2S)-2[(amino)-2-(tetrahidro-2H-pirano-4-il)]acético,

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

q representa un número entero de 0 a 5,

X^2 representa el aminoácido natural I o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilisoleucina ((N-Me)I), L-ciclobutilalanina (Cba), L-norvalina (Nva) y ácido L-2-aminobutírico (Abu),

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S y T,

X^5 representa el aminoácido natural R,

X^6 representa el aminoácido natural S o el aminoácido no natural alo-L-treonina (alo-T),

X^7 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en N y L, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 2,5-difluoro-L-fenilalanina ((2,5-difluoro)F), L-2-bromofenilalanina ((2-bromo)F), 2-cloro-L-fenilalanina ((2-Cloro)F), 4-fluoro-L-leucina ((4-fluoro)L), L-*tert*-butilalanina ((tBu)A), ácido (S)-(trifluorometil)-L-cisteína, ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)-propanoico y ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), 3-(trimetilsilil)-L-alanina,

X^8 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico y ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico,

X^9 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), (2S,4S)-4-trifluorometil-pirrolidina-2-carboxílico ((4-CF3)P), ácido (6S)-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico, ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico, ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1) y ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2),

X^{10} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético, ácido (S)-2-amino-3-etil-pentanoico, L-ciclohexilglicina (Chg) y L-ciclopentilglicina (Cpg),

X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-isoleucina (alo-I), ácido (S)-2-amino-2-ciclobutilacético (Cbg) y ácido 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-carboxílico,

y en el caso de que u, t y s sean 0, el grupo carboxilo terminal de X^{12} no se sustituye ni se amida,

X^{13} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en P y D o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2-aminoisobutírico (Aib), 2-metil-L-prolina (2-Me)P y *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-Fluoro)P),

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

y en el caso de que u y t sean 0 y s sea diferente de 0, el grupo carboxilo terminal de X^{13} no se sustituye ni se amida,

s representa un número entero de 0 a 3,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q, N, E y P o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 3-carboxifenilalanina ((3-carboxi)F), N-metil-glicina ((N-Me)G), ácido (2S)-pirrolidin-2-ilacético (beta-homo-P), ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap), L-ornitina (Orn) y ácido tranexámico (tranexámico),

mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D,

y en el caso de que u sea 0 y t sea diferente de 0, el grupo amino terminal de X^{14} no se sustituye ni se amida,

t representa un número entero de 0 a 4,

X^{15} es un grupo químico seleccionado de la lista que consiste en ácido (1R,3S)-3-(Amino)ciclopentanecarboxílico, ácido (1S,3R)-3-(Amino)-ciclopentanecarboxílico, ácido (R)-4-amino-6-metilheptanoico, ácido (S)-(1-Piperidin-3-il)-acético, ácido (S)-3-(1-Pirrolidina-2-il)-propiónico, ácido (S)-3-(2H-tetrazol-5-il)-propanoico, ácido (S)-pirrolidin-3-carboxílico, ácido 5-Azaspiro[2.4]heptano-1-carboxílico y ácido (2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico,

u representa el número entero 0 o 1,

con la condición de que el péptido contenga al menos un aminoácido no natural.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

p representa el número entero 0,

X^{1} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en A y G o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-metil-L-alanina (N-Me)A, N-metilglicina ((N-Me)G), L-norleucina (Nle), L-norvalina (Nva) y L-ornitina (Orn),

q representa el número entero 0 o 1,

X^{2} representa el aminoácido natural I,

r representa el número entero 0 o 1,

X^{3} representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^{4} representa el aminoácido natural S,

X^{5} representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-metil-L-arginina ((Me)R),

X^{6} representa el aminoácido natural S,

X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-*tert*-butilalanina ((tBu)A),

X^8 representa el aminoácido natural P,

X^9 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic),

X^{10} representa el aminoácido natural I,

X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I,
y en el caso de que u, t y s sean 0, el grupo carboxilo terminal de X^{12} no se sustituye ni se amida,

X^{13} representa el aminoácido natural P,
y en el caso de que u y t sean 0 y s sea diferente de 0, el grupo carboxilo terminal de X^{13} no se sustituye ni se amida,

s representa el número entero 0 o 1,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q y E,
y en el caso de que u sea 0 y t sea diferente de 0, el grupo amino terminal de X^{14} no se sustituye ni se amida,

t representa el número entero 0 o 1,

u representa el número entero 0,

con la condición de que el péptido contenga al menos un aminoácido no natural.

Según una realización posterior, la invención da a conocer un compuesto que contiene un péptido de la siguiente fórmula (II),

$$(X^1)_q(X^2)_rX^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}(X^{13})_s(X^{14})_t \quad \text{(II)},$$

o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

X^1 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en A y G o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-metil-L-alanina (N-Me)A, N-metilglicina ((N-Me)G), L-norleucina (Nle), L-norvalina (Nva) y L-ornitina (Orn),

q representa el número entero 0 o 1,

X^2 representa el aminoácido natural I,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa el aminoácido natural S,

X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-Metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa el aminoácido natural S,

X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-terc-Butilalanina ((tBu)A),

X^8 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural L-Prolina (3,4-2H),

X^9 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic),

X^{10} representa el aminoácido natural I,

X^{11} representa un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I,

X^{13} representa el aminoácido natural P,

s representa el número entero 0 o 1,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q y E,

t representa el número entero 0 o 1,

donde el terminal N del péptido no es sustituido, acetilado ni mono- o disustituido con alquilo C_1-C_{20},

donde el C-terminal del péptido no se sustituye ni se amida, y

donde el péptido se somete a una ciclización mediante un enlace que conecta X^3 y X^{11}.

Según otra realización, la invención da a conocer un compuesto que contiene un péptido de la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

X^1 representa un aminoácido natural o un aminoácido no natural,

q representa el número entero 0 o 1,

X^2 representa el aminoácido natural I,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa el aminoácido natural S,

X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-Metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa el aminoácido natural S,

X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-terc-Butilalanina ((tBu)A),

X^8 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural L-Prolina (3,4-2H),

X^9 representa el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic),

X^{10} representa el aminoácido natural I,

X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I,

X^{13} representa el aminoácido natural P,

s representa el número entero 0 o 1,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q y E,

t representa el número entero 0 o 1,

donde el terminal N del péptido no es sustituido, acetilado ni mono- o disustituido con alquilo C_1-C_{20},

donde el C-terminal del péptido no se sustituye ni se amida, y

donde el péptido se somete a una ciclización mediante un enlace que conecta X^3 y X^{11}.

Según otra realización, la invención da a conocer un compuesto que contiene un péptido de la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde

X^1 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en A y G o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-metil-L-alanina (N-Me)A, N-metilglicina ((N-Me)G), L-norleucina (Nle), L-norvalina (Nva) y L-ornitina (Orn),

q representa el número entero 0 o 1,

X^2 representa el aminoácido natural I,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa el aminoácido natural S,

X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-Metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa el aminoácido natural S,

X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-terc-Butilalanina ((tBu)A),

X^8 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural L-Prolina (3,4-2H),

X^9 representa el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic),

X^{10} representa el aminoácido natural I,

X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I,

X^{13} representa el aminoácido natural P,

s representa el número entero 0 o 1,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q y E,

t representa el número entero 0 o 1,

donde el N-terminal del péptido no se sustituye ni se acetila,

donde el C-terminal del péptido no se sustituye ni se amida, y

donde el péptido se somete a una ciclización mediante un enlace que conecta X^3 y X^{11}.

En particular, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido de la fórmula (I) o compuestos que contienen un péptido de la fórmula (II).

Según la presente invención, las siguientes definiciones de X^1 a X^{14} se aplican a los péptidos de la fórmula (I) y a los péptidos de la fórmula (II), las definiciones de las posiciones X^0 y X^{15} se aplican a los péptidos de la fórmula (I).

Según la presente invención, X^0, si está presente, puede ser un grupo químico que no es un aminoácido, según la definición que figura en la presente.

Según otra realización de la invención, X^0 representa un grupo químico seleccionado de la lista que consiste en ácido 2-cianobenzoico, ácido (1S,2S,4S)-biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilacético, ácido (2,4-dioxoimidazolidin-1-il)acético, ácido 2-(tiomorfolin)acético ((2-tiomorfolin)acetil), ácido 2-(N-isopropil-N-metilamin)acético, ácido (S)-3-metilvalérico ((S)-3-metilpentanoico), ácido 2-(3-piridil)acético, ácido 2-(ciclohexilamin)acético (2-(ciclohexilamin)acetil), ácido 2-(dietilamin)acético (2-(dietilamin)acetil), ácido 2-(morfolin)acético (2-(morfolin)acetil), ácido 2-(N-metil-N-ciclopropilamin)acético (2-(N-metil-N-ciclopropilamin)acetil), ácido 2-(piperidin)acético (2-(piperidin)acetil), ácido 2-

(pirrolidin)acético (2-(pirrolidin)acetil), ácido 2-hidroxiacético (2-hidroxiacetil), ácido 2-hidroxiisobutírico (2-hidroxiisobutírico), ácido 3-(aminometil)benzoico, ácido 3-metoxipropiónico, ácido 4-(aminometil)benzoico, ácido 4-metilpentanoico (4-metilvalérico), ácido 5-corotiofen-carboxílico, ácido 1-aminometil)-ciclopropil-1-carboxílico (ACMP), ácido adípico, ácido (S)-azetidin-2-carboxílico, ácido benzoico (benzoico), ácido 4-(3,5-dimetil-1,2-oxazol-4-il)-L-fenilalanina, ácido ciclobutancarboxílico (ciclobutancarboxílico), ácido 2-(ciclobutil)acético (ciclobutilacético), ácido ciclohexilacético (ciclobutilacético), ácido ciclohexilacético (ciclohexilacético), ácido ciclohexanocarboxílico (ciclohexilcarboxílico), ácido ciclopentanocarboxílico, ácido ciclopentilacético (ciclopentilacético), ácido ciclopropanocarboxílico, ácido ciclopropilacético, D-(+)biotina, ácido fumárico, ácido 3-fenilpropanoico (hidrocinámico), ácido isobutírico, ácido isovalérico, ácido L-(+)-láctico (láctico), ácido fenilacético, ácido piperidin-4-ilacético, ácido piválico (piválico), ácido subérico, ácido *tert*-butilacético, ácido tetrahidropiranil-4-acético, ácido tetrahidro-2H-piran-3-ilacético y ácido trans-2-(3-((t-butoxi)carbonilamin)ciclohexil)acético).

Según otra realización de la invención, X^0 representa un grupo químico seleccionado de la lista que consiste en ácido 2-cianobenzoico, ácido (1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico, ácido (2-Tiomorfolin)acético, ácido (N-Isopropil-N-metilamino)acético, ácido 2-(3-piridil)acético, ácido 2-(ciclohexilamin)acético, ácido 2-(dietilamin)acético, ácido 2-(morfolin)acético, ácido 2-(piperidin)acético, ácido 2-(pirrolidin)acético, ácido 3-(aminometil)benzoico, ácido 4-(aminometil)benzoico, ácido 1-(aminometil)-ciclopropil-1-carboxílico (ACMP), ácido azetidin-2-carboxílico, ácido benzoico, ácido ciclobutílico, ácido ciclopropilacético, ácido fenilacético, ácido piperidin-4-ilacético, ácido tetrahidro-2H-pirano-3-ilacético, ácido tranexámico y ácido *trans*-2-(3-((t-butoxi)carbonilamino)ciclohexil)acético.

Según otra realización de la invención, X^0 es un grupo químico seleccionado de un aminoácido no natural conforme se define arriba, ácido 2-cianobenzoico, un ácido benzoico sustituido o los ácidos fenilacéticos.

Según otra realización de la invención, X^0 es Hoo, ODD o Ahx.

Según otra realización de la invención, p representa el número entero 1.

Según otra realización de la invención, p representa el número entero 0.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^1 representa cualquier aminoácido natural, o un aminoácido no natural, preferentemente seleccionado de una lista que consiste en los aminoácidos no naturales enumerados en la Tabla 1, donde cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D.

Según otra realización de la invención, X^1 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en A, F, G, H, I, K, L, P, R, S, T, V, W e Y o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-metil-alanina (N-Me)A, N-metil-glicina ((N-Me)G), ácido (1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico, L-3-bromofenilalanina ((3-bromo)F), L-N,N-dimetilalanina ((N,N-diMe)A), N,N-dimetilglicina ((N, N-diMe)G), N-fenilglicina ((N-Ph)G), ácido (R)-piperidina-3-carboxílico, ácido (S)-piperidina-3-carboxílico, L-*tert*-butilalanina ((tBu)A), L-2-piridilalanina (2-Pal), L-3-piridilalanina (3-Pal), L-4-piridilalanina (4-Pal), ácido 3-(aminometil)benzoico, ácido 3-amino-2,2-dimetilpropiónico, ácido 3-amino-3-metilbutírico, ácido 4-(aminometil)benzoico, ácido L-2-aminobutírico (Abu), ácido 1-aminociclobutano-1-carboxílico (ACBA), ácido 6-aminohexanoico (Ahx), ácido 2-aminoisobutírico (Aib), L-2-tienilalanina (beta-2-tienilalanina), beta-alanina (beta-A), beta-prolina (beta-P), L-citrulina (Cit), ácido L-2,4-diaminobutírico (Dab), ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap), ácido gamma-aminobutírico (Gamma-Abu), L-3-metilhistidina (3-Me)H), ácido L-dihidroorótico (Hoo), L-norleucina (Nle), N-metil-L-prolina ((N-Me)P), L-norvalina (Nva), L-ornitina (Orn), ácido L-pipecólico (Pip), ácido (2S)-2[(amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-

il)]acético y ácido tranexámico (tranexámico), donde cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D.

Según otra realización de la invención, X^1 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en A y G o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-metil-L-alanina (N-Me)A, N-metilglicina ((N-Me)G), L-norleucina (Nle), L-norvalina (Nva) y L-ornitina (Orn), donde cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D.

Según otra realización de la invención, X^1 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en A y G o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en N-metil-L-alanina (N-Me)A, N-metilglicina ((N-Me)G), L-norleucina (Nle), L-norvalina (Nva) y L-ornitina (Orn).

Según otra realización de la invención, X^1 representa el aminoácido natural A o el aminoácido no natural N-metil-glicina ((N-Me)G).

Según otra realización de la invención, en el caso de que p sea 0 y q sea diferente de 0, el grupo amino terminal de X^1 es no sustituido, acetilado o mono o disustituido con alquilo C_1-C_4, preferentemente monosustituido, con alquilo C_1-C_{20}.

Según otra realización de la invención, X^1 es metilado.

Según otra realización de la invención, X^1 es acetilado.

Según otra realización de la invención, q representa el número entero 0.

Según otra realización de la invención, q representa el número entero 1.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^2 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en I, L, M, V y A, o un aminoácido no natural seleccionado de una

lista que consiste en L-N-metilisoleucina ((N-Me)I), alo-L-isoleucina (alo-I), L-ciclobutilalanina (Cba), L-norvalina (Nva), ácido L-2-aminobutírico (Abu), ácido (2S,3S)-2-[(3R)-3-amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S,3S)-2-[2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S, 3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico, L-metionina-L-sulfóxido, L-metionina-sulfona y L-*tert*-butilglicina, donde cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la metilo estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D.

Según otra realización de la invención, X^2 representa un aminoácido natural I o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilisoleucina ((N-Me)I), alo-L-isoleucina (alo-I), L-ciclobutilalanina (Cba), L-norvalina (Nva), ácido L-2-aminobutírico (Abu), (2S,3S)-2-[(3R)-3-amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S,3S)-2-[2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico, ácido (2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico, donde cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la metilo estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D.

Según otra realización de la invención, X^2 representa el aminoácido natural I o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilisoleucina ((N-Me)I), L-ciclobutilalanina (Cba), L-norvalina (Nva) y ácido L-2-aminobutírico (Abu), donde cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la estereoconfiguración L puede ser reemplazado por el estereoisómero en la estereoconfiguración D.

Según otra realización de la invención, X^2 representa el aminoácido natural I.

Según otra realización de la invención, en el caso de que p y q sean 0 y r sea 1, el grupo amino terminal de X^2 es no sustituido, acetilado o mono- o disustituido con alquilo C_1-C_{20}, preferentemente monosustituido, con alquilo C_1-C_4.

Según otra realización de la invención, r representa el número entero 0.

Según otra realización de la invención, r representa el número entero 1.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^3 representa el aminoácido natural C o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L- penicilamina (Pen) y L-N-metilcisteína ((N-Me)C).

Según otra realización de la invención, X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido no natural L-Penicilamina (Pen).

Según otra realización de la invención, X^3 representa el aminoácido natural C.

Según otra realización de la invención, en el caso de que p, q y r sean 0, el grupo amino terminal de X^3 es no sustituido, acetilado o mono- o disustituido con alquilo C_1-C_4, preferentemente monosustituido, con alquilo C_1-C_{20}.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^4 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S, C o T, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-treonina (alo-T), L- homoserina (hSer) and L-ornitina (Orn).

Según otra realización de la invención, X^4 representa el aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S, C, T, R y K.

Según otra realización de la invención, X^4 representa el aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S o T.

Según otra realización de la invención, X^4 representa el aminoácido natural S.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato

de la sal, donde X^5 representa un aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-metil-L-arginina ((Me)R).

Según otra realización de la invención, X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural (N(5)-metil-L-arginina ((Me)R).

Según otra realización de la invención, X^5 representa el aminoácido natural R.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^6 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en S, C o T, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-treonina (alo-T) y ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap).

Según otra realización de la invención, X^6 representa el aminoácido natural S o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en alo-L-Treonina (alo-T) y ácido L-2,3-diaminopropiónico (Dap).

Según otra realización de la invención, X^6 representa el aminoácido natural S o el aminoácido no natural alo-L-treonina (alo-T).

Según otra realización de la invención, X^6 representa el aminoácido natural S.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^7 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en L, F o N o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), L-4-bromofenilalanina ((4-Bromo)F), 2,5-difluoro-L-fenilalanina ((2,5-difluoro)F), L-*tert*-butilalanina ((tBu)A), 2-cloro-L-fenilalanina ((2-Cloro)F), L-2-bromofenilalanina ((2-bromo)F), ácido (S)-2-(amino)-1,6-hexanodioico (AAD), (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, ácido L-2-amino-4-cianobutírico (Cnba), 4-fluoro-leucina ((4-fluoro)L), (S)-(trifluorometil)-L-cisteína, ácido (2S)-2-amino-

3-(1-metilciclopropil)-propanoico, L-tert-Butilglicina ((tBu)G), 3-(Trimetilsilil)-L-alanina, 2,5-difluoro-L-fenilalanina, ácido 2-amino-7-(*tert*-butoxi)-7-oxoheptanoico, 5,5,5-trifluoro-L-leucina ((Trifluoro)L), 2-metil-L-fenilalanina ((2-Me)F), L-ciclobutilalanina (Cba), L-ciclopentilalanina (Cpa), L-ciclopropilmetilalanina, L-trifluorometilalanina, L-difluorometilalanina, 2-fluoro-L-fenilalanina ((2-fluoro)F), ácido (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico, ácido (2S)-3-(3-cianofenil)-2-aminopropanoico, ácido 2-amino-5,5,5-trifluoro-4-metil-pentanoico, ácido (2S)-2-amino-5-metil-hexanoico y ácido (2S)-3-(indol-4-il)-2-(amino)propanoico.

Según otra realización de la invención, X^7 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en L y N, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 2,5-difluoro-L-fenilalanina ((2,5-difluoro)F), L-2-bromofenilalanina ((2-bromo)F), 2-cloro-L-fenilalanina ((2-cloro)F), L-4-bromofenilalanina ((4-bromo)F), 4-fluoro-L-leucina ((4-fluoro)L), L-*tert*-butilalanina ((tBu)A), L-*tert*-butilglicina ((tBu)G), 5,5,5-trifluoro-L-leucina ((trifluoro)L), ácido (S)-2-(amino)-1,6-hexanodioico (AAD), ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, ácido L-2-amino-4-cianobutírico (Cnba), (S)-(trifluorometil)-L-cisteína, ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico, ácido (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico, ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), ácido 3-(trimetilsilil)-L-alanina y ácido 2-amino-7-(*tert*-butoxi)-7-oxoheptanoico.

Según otra realización de la invención, X^7 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en N o L, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en 2,5-difluoro-L-fenilalanina ((2,5-difluoro)F), L-2-bromofenilalanina ((2-bromo)F), 2-cloro-L-fenilalanina ((2-cloro)F), 4-fluoro-L-leucina ((4-fluoro)L), L-*tert*-butilalanina ((tBu)A), ácido (S)-(trifluorometil)-L-cisteína, ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)-propanoico y ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), 3-(trimetilsilil)-L-alanina.

Según otra realización de la invención, X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-*tert*-butilalanina ((tBu)A).

Según otra realización de la invención, X^7 representa el aminoácido no natural L-*tert*-butilalanina ((tBu)A).

Según otra realización de la invención, X^7 representa el aminoácido natural L.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^8 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-prolina (3,4-$_2$H), ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico, ácido (1R,2S,5S)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico, L-hidroxiprolina (Hyp), ácido (3S)-morfolina-3-carboxílico (morfolina-3-carboxílico), ácido L-pipecólico (Pip), ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico, *trans*-4-fluoroprolina ((trans-4-fluoro)P) y ácido (1R,2S,5S)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-carboxílico.

Según otra realización de la invención, X^8 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-prolina (3,4-$_2$H), ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico, ácido *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-Fluoro)P), L-hidroxiprolina (Hyp), ácido (3S)-morfolin-3-carboxílico (Morfolin-3-carboxílico), ácido L-pipecólico y ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-Oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico.

Según otra realización de la invención, X^8 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-prolina (3,4-$_2$H), ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico y ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico.

Según otra realización de la invención, X^8 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural ácido L-prolina (3,4-$_2$H).

Según otra realización de la invención, X^8 representa el aminoácido natural P.

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^9 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), L-hidroxiprolina (Hyp), (2S,4S)-4-trifluorometil-pirrolidina-2-carboxílico ((4-CF3)P), (2S,4S)-4-fluoroprolina ((*cis*-4-fluoro)P), *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-fluoro)P), ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, L-*trans*-3-hidroxiprolina ((3S-OH)P, ácido (1R,3S,5R)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (6S)-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico, ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico, *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-fluoro)P), (2S,4S)-4-fluoroprolina ((*cis*-4-fluoro)P), L-4,4-difluoroprolina ((difluoro)P), ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1) y ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2).

Según otra realización de la invención, X^9 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), ácido (6S)-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico, ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S,4S)-4-trifluorometil-pirrolidin-2-carboxílico ((4-CF3)P), ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico, ácido (1R,3S,5R)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S)-2-amino-4,4,4-trifluorobutanoico, L-*trans*-3-hidroxiprolina ((3S-OH)P, *trans*-4-fluoroprolina ((*trans*-4-fluoro)P), L-hidroxiprolina (Hyp), (2S,4S)-4-fluoroprolina

((*cis*-4-fluoro)P), ácido (3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1) y ácido (3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2).

Según otra realización de la invención, X^9 representa el aminoácido natural P, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic), (2S,4S)-4-trifluorometil-pirrolidina-2-carboxílico ((4-CF3)P), ácido (6S)-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico, ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico, ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico, ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1) y ácido rel-(3R,6R)-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2).

Según otra realización de la invención, X^9 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-carboxílico (Oic).

Según otra realización de la invención, X^9 representa el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic).

Según otra realización, la invención da a conocer compuestos que contienen un péptido, que pueden aislarse y/o purificarse, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en la fórmula (I), la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^{10} representa el aminoácido natural I o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido L-ciclopentilglicina (Cpg), L-ciclohexilglicina (Chg), (S)-2-amino-3-etil-pentanoico, 3-clorofenilglicina ((3-cloro-Ph)G), L-*tert*-butilglicina, alo-L-isoleucina (alo-I), L-ciclobutilglicina, L-norvalina (Nva) y ácido (2S)-2-(amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético.

Según otra realización de la invención, X^{10} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético, 3-clorofenilglicina ((3-cloro-Ph)G), ácido (S)-2-amino-3-etil-pentanoico, alo-L-isoleucina (alo-I), L-

ciclohexilglicina (Chg), L-ciclopentilglicina (Cpg), L-ciclobutilglicina y L-norvalina (Nva).

Según otra realización de la invención, X^{10} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético, ácido (S)-2-amino-3-etil-pentanoico, L-ciclohexilglicina (Chg) y L-ciclopentilglicina (Cpg).

Según otra realización de la invención, X^{10} representa el aminoácido natural I.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-Penicilamina (Pen).

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-Penicilamina (Pen).

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{11} representa un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-Penicilamina (Pen).

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{11} representa el aminoácido no natural L-Penicilamina (Pen).

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^{9} representa el aminoácido no natural 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico (Oic) y X^{11} representa el aminoácido no natural L-N-metilcisteína ((N-Me)C) o el aminoácido no natural L-Penicilamina (Pen).

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^9 representa el aminoácido no natural 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico (Oic) y X^{11} representa el aminoácido no natural L-Penicilamina (Pen).

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^9 representa el aminoácido no natural 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico (Oic) y X^{11} representa un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-Penicilamina (Pen).

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^{12} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en allo-L-Isoleucina (allo-I), ácido (S)-2-Amino-2-ciclobutilacético (Cbg), ácido (2S,3S)-2-((amino)metil)-3-metilpentanoico, L-fenilglicina (Phg), 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-ácido carboxílico, 2-metil-D-alloisoleucina, L-Norvalina (Nva), L-2-Aminoácido butírico (Abu), L-tert-butilglicina y ácido Aminoisobutírico (Aib).

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{12} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-ácido carboxílico, ácido (S)-2-Amino-2-ciclobutilacético (Cbg), allo-L-Isoleucina (allo-I), L-fenilglicina (Phg), 2-metil-D-alloisoleucina y ácido (2S,3S)-2-((amino)metil)-3-metilpentanoico.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{12} representa el aminoácido natural I, o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en allo-L-Isoleucina (allo-I), ácido (S)-2-Amino-2-ciclobutilacético (Cbg) y 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-ácido carboxílico.

Según otra realización de la invención, X^{12} representa el aminoácido natural I.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, en el caso u y t y s son todos 0, el grupo carboxil terminal de X^{12} es no sustituido o amidado.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^{13} representa un aminoácido natural seleccionado a partir de una lista que consiste en P, A, S, T, G, D, E, Q o N o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en N-metil-glicina ((N-Me)G), 5-azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico, ácido L-2-Aminobutírico (Abu), ácido 2-Aminoisobutírico (Aib), 2-metil-L-Prolina (2-Me)P, hidroxiprolina (Hyp), 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico (Oic), trans-4-fluoroprolina ((trans-4-Fluoro)P), (2S,4S)-4-fluoroprolina ((cis-4-Fluoro)P), L-4,4-difluoroprolina ((Difluoro)P), L-ciclopentilglicina (Cpg), ácido (S)-2-Amino-2-ciclobutilacético (Cbg) y ácido (2S)-Pirrolidina-2-ilacético (beta-homo-P), mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la L-estereoconfiguración se puede reemplazar con el estereoisómero en la D-estereoconfiguración.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{13} representa un aminoácido natural seleccionado a partir de una lista que consiste en P, A y D o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en 2-metil-L-prolina (2-Me)P, N-metil-glicina ((N-Me)G), trans-4-fluoroprolina ((trans-4-Fluoro)P), L-2-Aminoácido butírico (Abu), ácido 2-Aminoisobutírico (Aib), hidroxiprolina (Hyp) y 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico (Oic), mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la L-estereoconfiguración se puede reemplazar con el estereoisómero en la D-estereoconfiguración.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{13} representa un aminoácido natural seleccionado a partir de una lista que consiste en P o D o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en

ácido 2-Aminoisobutírico (Aib), 2-metil-L-prolina (2-Me)P y trans-4-fluoroprolina ((trans-4-Fluoro)P), mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la L-estereoconfiguración se puede reemplazar con el estereoisómero en la D-estereoconfiguración.

Según otra realización de la invención, X^{13} representa el aminoácido natural P.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, s representa un número entero de 0.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, s representa un número entero de 1.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, en el caso u y t los dos son 0 y s es diferente de 0, el grupo de carboxil terminal de X^{13} es no sustituido o amidado.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, en el caso t es 0 y s es 1, el grupo de carboxil terminal de X^{13} es no sustituido o amidado.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde X^{14} representa cualquier aminoácido natural o un aminoácido no natural, mientras que cualquier aminoácido natural y/o aminoácido no natural puede estar en la D- o L-estereoconfiguración.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado a partir de una lista que consiste en D, E, G, K, N, P y Q o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en 3-Carboxifenilalanina ((3-Carboxi)F), ácido (2S)-2-Amino-4-(benzilamino)-4-oxobutanocarboxílico ((N-Benzil)D), N-metil-glicina ((N-Me)G), ácido 6-Aminohexanoico (Ahx), ácido (2S)-Pirrolidina-2-ilacético (beta-homo-P), ácido L-2,3-Diaminopropionico (Dap), L-Ornitina (Orn) y ácido Tranexámico (Tranexámico), mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natu-

ral en la L-estereoconfiguración se puede reemplazar con el estereoisómero en la D-estereoconfiguración.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado a partir de una lista que consiste en D, Q, N, E y P o un aminoácido no natural seleccionado a partir de una lista que consiste en 3-Carboxifenilalanina ((3-Carboxi)F), N-metil-glicina ((N-Me)G), ácido (2S)-Pirrolidina-2-ilacético (beta-homo-P), ácido L-2,3-Diaminopropionico (Dap), L-Ornitina (Orn) y ácido Tranexámico (Tranexámico), mientras que cada aminoácido natural y/o aminoácido no natural en la L-estereoconfiguración se puede reemplazar con el estereoisómero en la D-estereoconfiguración.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado a partir de una lista que consiste en D, Q o I.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{14} representa el aminoácido natural D.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, la fracción C-terminal "-OH" en X^{14} es sustituida por una fracción C-terminal "-NH_2".

Según otra realización de la invención, q representa el número entero 0.

Según otra realización de la invención, q representa el número entero 1.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, en el caso s y t representan el número entero 1, el grupo de carboxil terminal de X^{14} es no sustituido o amidado.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, en el caso s y t representan el número entero 1, el grupo de carboxil terminal de X^{14} es no sustituido.

De acuerdo con la presente invención X^{15}, si está presente, puede ser un grupo químico que no es un aminoácido.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{15} es un grupo químico seleccionado de la lista que consiste en -NH_2, -NH-C_1-C_6-alquilo, ácido (1R,3S)-3-(Amino)ciclopentanocarboxílico, ácido (1S,3R)-3-(Amino)ciclopentanocarboxílico, ácido (R)-4-Amino-6-metilheptanoico, (S)-(1-

Piperidin-3-il)-ácido acético, (S)-3-(1-pirrolidina-2-il)-ácido propiónico, (S)-3-(2H-tetrazol-5-il)ácido propanoico, (S)-Pirrolidina-3-ácido carboxílico, 5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico y (2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)ácido propanoico.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, X^{15} es un grupo químico seleccionado de $-NH_2$ o $-NH-C_1-C_6$-alquilo, preferentemente $-NH_2$.

Según otra realización de la invención, q representa el número entero 0.

Según otra realización de la invención, q representa el número entero 1.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el N-terminal del péptido es no sustituido, acetilado o mono o disustituido con C_1-C_{20}-alquilo.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el N- terminal del péptido es no sustituido, acetilado o mono o disustituido con C_1-C_4-alquilo.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el N- terminal del péptido es no sustituido o acetilado.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el C- terminal es no sustituido o amidado.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el N- terminal y C-terminal son no sustituidos.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, que se seleccionan del grupo que consiste en el ejemplo, 29, 44, 45, 67, 75, 109, 166, 185, 443 y 466 o que se seleccionan del grupo que consiste en el ejemplo, 29, 44, 45, 67, 75, 109, 166, 185, 443, 466 y 499.

El péptido de la fórmula (I) o (II) puede ser lineal o ciclizado. El término "ciclizado", como se usa en la presente, se refiere a una reacción en la que una parte de una molécula de polipéptido (p. ej. Cys, (N-Me)Cys o Pen) se une a otra parte de la molécula de polipéptido (p. ej. otro Cys, (N-Me)Cys o Pen) para formar un anillo cerrado, tal como al formar una conexión de disulfuro (-S-S-) u otras

uniones similares tal como una unión carbono–azufre (p. ej. (-CH_2-S-) o (-$(CH_2)_2$-S-)), una unión azufre-carbono (p. ej. (-S-CH_2-) o (-S-$(CH_2)_2$-)), una unión carbono-azufre-carbono (-CH_2-S-CH_2-) o una unión carbono-carbono (p. ej. (-CH_2-CH_2-). De acuerdo con la presente invención un enlace entre las posiciones X^3 y X^{11} del péptido es preferido. Un aminoácido seguido de un "+" en una secuencia de un péptido de acuerdo con la invención se refiere a un péptido cíclico, donde el aminoácido se une a otro aminoácido seguido de un "+" por una conexión de disulfuro que forma un anillo cerrado. De manera alternativa, dos grupos químicos enlazados de una molécula de polipéptido se pueden representar mediante una línea de conexión.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, donde el péptido es ciclizado.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el péptido de la fórmula (I) o la fórmula (II) es ciclizado a través de un enlace que conecta X^3 y X^{11}.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el péptido de la fórmula (I) o la fórmula (II) es ciclizado a través de un enlace que conecta X^3 y X^{11} y donde X^3 y X^{11} se conectan a través de un enlace de la fórmula -S-S-, -CH_2-S-, -S-CH_2-, -CH_2-CH_2-, -S-$(CH_2)_2$-, -$(CH_2)_2$-S- o -CH_2-S-CH_2-.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el péptido de la fórmula (I) o la fórmula (II) es ciclizado a través de un enlace que conecta X^3 y X^{11} y donde X^3 y X^{11} se conectan a través de una unión de disulfuro de la fórmula -S-S-.

El péptido de la presente invención se puede sustituir con un polímero adecuado soluble en agua caracterizado por unidades de repetición. Los polímeros adecuados se pueden seleccionar del grupo que consiste en polímeros polialquilooxi, ácido hialurónico y derivados de este, alcoholes polivinílicos, po-

lioxazolinas, polianhidridos, poli(orto ésteres), policarbonatos, poliuretanos, ácidos poliacrílicos, poliacrilamidas, poliacrilatos, polimetacrilatos, poliorganofosfacenos, polisiloxanos, polivinilpirrolidona, policianoacrilatos y poliésteres.

Los péptidos de la presente invención se pueden sustituir con al menos un grupo de polietileno (grupo de PEG). Al menos un grupo de PEG está preferentemente ligado al extremo N-terminal y/o C-terminal. El grupo de PEG se puede ligar a cualquier grupo funcional adecuado de un grupo químico y/o aminoácido del péptido, p. ej. grupo de hidroxilo, grupo de carboxilo, grupo de amino, grupo de tiol, preferentemente un grupo de amino o carboxi. Preferentemente el péptido de acuerdo con la invención contiene un grupo de PEG ligado al extremo N-terminal o un grupo de PEG ligado al extremo C-terminal. Más preferentemente un grupo de PEG es ligado al extremo N-terminal o C-terminal a través de un enlace de amida.

La PEGilación de péptidos puede mejorar su solubilidad, reducir la inmunogenicidad, mejorar la estabilidad y/o aumentar la semivida al reducir la eliminación renal, que es un concepto bien conocido desde principios de la década de los 1980 (Caliceti P.,Veronese F.M., Adv. Drug Deliv. Rev.2003, 55, 1261-1277). Para varios medicamentos, esto se ha usado con éxito, pero con muchos ejemplos, la PEGilación reduce la eficacia de la sustancia medicamentosa en una medida de que este concepto ya no es más adecuado (T. Peleg-Shulman *et al.*, J. Med.Chem., 2004, 47, 4897-4904).

Un grupo de PEG de acuerdo con la invención es cualquier grupo que contiene al menos dos unidades de óxido de etileno para formar un oligómero o un óxido de etileno de polímero. El grupo de PEG se acopla de forma covalente con un péptido de la presente invención (PEGilación), que luego se denomina un péptido PEGilado. En general, este tipo de modificación a una molécula es bien conocido en la técnica.

El grupo de PEG puede consistir en una fracción de interconexión, una fracción de polímero y un grupo abierto. Las fracciones de interconexión pueden consistir en un alquilo C_1-C_{20}, que se interrumpe opcionalmente o se termina median-

te grupos de hetero átomos o funcionales seleccionados del grupo que consiste en -O-, -S-, $N(R^X)$, C(O), $C(O)R^X$, $C(O)N(R^X)$, $N(R^X)C(O)$, uno o más cicloalquilo C_3-C_8, heterocicloalquilo C_3-C_7, arilo o heterarilo, donde R^X es hidrógeno o alquilo C_1-C_6, que se interrumpe opcionalmente o se termina mediante uno o más de los átomos o grupos mencionados arriba, que tienen, además, un hidrógeno como átomo terminal. Las fracciones del polímero consisten en al menos dos unidades de óxido de etileno, se interrumpe opcionalmente o se termina mediante uno o más grupos de hetero átomos o funcionales seleccionados del grupo que consiste en -O-, -S-, $N(R^X)$, C(O), $C(O)R^X$, $C(O)N(R^X)$, $N(R^X)C(O)$, alquilo C_1-C_6, cicloalquilo C_3-C_8, heterocicloalquilo C_3-C_7, arilo o heterarilo, donde R^X es hidrógeno o alquilo C_1-C_6. El grupo final puede consistir en un grupo de hetero átomos o funcional seleccionado de OH, SH, $N(R^X)_2$, $C(O)R^X$; COR^X, $COOR^X$, $C(O)N(R^X)$, $N(R^X)C(O)NH_2$ donde R^X es hidrógeno o alquilo C_1-C_6. Los grupos finales preferidos son COOH y $C(O)NH_2$.

Los ejemplos de espaciadores de PEG de acuerdo con la presente invención comprenden PEG1(10 átomos) que tiene 1 unidad de glicol etileno (n = 1; 10 átomos), PEG2(13 átomos) que tiene 2 unidades de glicol etileno (n = 2; 13 átomos), PEG3(16 átomos) que tiene 3 unidades de glicol etileno (n = 3; 16 átomos), PEG4(19 átomos) que tiene 4 unidades de glicol etileno (n = 4; 19 átomos), PEG5(22 átomos) que tiene 5 unidades de glicol etileno (n = 5; 22 átomos), PEG6(25 átomos) que tiene 6 unidades de glicol etileno (n = 6; 25 átomos) etc.

Se observa que los grupos de PEG como se definen en la presente se pueden indicar con diferentes nombres por proveedores comerciales, que no excluirán dichos compuestos idénticos con diferentes nombres a partir de la presente invención.

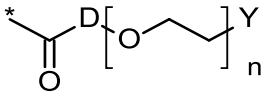
De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona compuestos que contienen un péptido, que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, sol-

vato o solvato de la sal, donde el péptido es sustituido por al menos un grupo de PEG.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el péptido es sustituido por un grupo de PEG.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el péptido es sustituido por un grupo de PEG, donde el grupo de PEG es ligado al extremo C-terminal, preferentemente a través de un enlace de amida.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el péptido es sustituido por al menos un grupo de PEG, mientras al menos uno o más grupos de PEG son un grupo de la fórmula (IIIa)



(IIIa),

donde

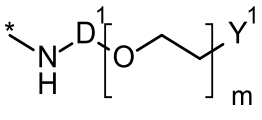
* marca el adjunto a un átomo de nitrógeno u oxígeno,

D es C_1-C_4-alquileno,

Y se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo, metoxi, etoxi, carboxi, carboxamida o amino y

n representa un número entero de 2 a 15,

o un grupo de la fórmula (IIIb)



(IIIb),

donde

* marca la unión a un grupo de carbonilo,

D^1 es C_1-C_4-alquileno,

Y^1 se selecciona del grupo que consiste en hidroxilo, metoxi, etoxi, carboxi, carboxamida o amino y

m representa un número entero de 2 a 15,

o TTDS.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, el péptido es sustituido por al menos un grupo de PEG, mientras al menos uno o más grupo de PEG seleccionado a partir de una lista que consiste en PEG1(10 átomos), PEG2(13 átomos), PEG3(16 átomos), PEG4(19 átomos), PEG4-CH_2CO_2H (15 átomos), PEG5(22 átomos), PEG5-CH_2CO_2H (18 átomos), PEG7(25 átomos), PEG8(28 átomos), PEG9(31 átomos) y TTDS.

El péptido de la presente invención puede comprender al menos un ácido graso C_8-C_{20}. El general, dicho ácido graso puede ser ramificado o cíclico. Al menos un ácido graso C_8-C_{20} es preferentemente ligado al extremo N-terminal y/o C-terminal. El ácido graso C_8-C_{20} se puede ligar a cualquier grupo funcional adecuado de un grupo químico y/o aminoácido del péptido, p. ej. grupo de hidroxilo, grupo de carboxilo, grupo de amino, grupo de tiol, preferentemente un grupo de amino o carboxi. Preferentemente el péptido de acuerdo con la invención contiene un ácido graso C_8-C_{20} ligado al extremo N-terminal o un ácido graso C_8-C_{20} ligado al extremo C-terminal. Más preferentemente el ácido graso C_8-C_{20} es ligado al extremo N-terminal y/o C-terminal a través de un enlace de amida. Preferentemente la cadena lateral de ácido graso formada por X^0 o X^{15} es un ácido graso > C_8, más preferentemente un ácido graso ≥ C_{12}, más preferentemente un ácido graso ≥ C_{14}. Se prefiere, adicionalmente, que la cadena lateral de ácido graso formada por X^0 o X^{15} sea un ácido graso C_{12}-C_{18}, preferentemente un ácido graso C_{12}-C_{16}, o un ácido graso C_{14}-C_{18}, o un ácido graso C_{14}-C_{16}. Con mayor preferencia es un ácido graso C_{16} tal como ácido palmítico (palmitoil, Palm) y un ácido graso C_{18} tal como ácido 1,18-Octadecanedioico (ODD).

Se comprende adicionalmente que la fracción en N-terminal o C- terminal puede ser un enlace, p. ej., un enlace covalente, particularmente en situaciones donde el terminal amino o terminal carboxi se liga a un enlazante o a otra fracción química.

Los grupos químicos, aminoácidos no naturales o fracciones se pueden abreviar en la presente como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3: Abreviaturas/expresiones y nomenclatura usadas para los grupos químicos, aminoácidos no naturales o fracciones adicionales en las secuencias

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
Ciclohexilcarboxílico	Ácido ciclohexanocarboxílico
Ácido (2S)-Amino-2-[3-(Trifluorometil)biciclo[1,1,1]pent-1-il]acético	Ácido (2S)-Amino-2-[3-(Trifluorometil)biciclo[1,1,1]pent-1-il]acético
(S)-3-(2H-tetrazol-5-il)ácido propanoico	(S)-3-(2H-tetrazol-5-il)ácido propanoico
Ácido (1R,3S)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico	Ácido (1R,3S)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico
(1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-ácido carboxílico	(1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-ácido carboxílico
Ácido (1R,3S,5R)-2-Azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico	Ácido (1R,3S,5R)-2-Azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico
ácido (1S,2S,4S)-Biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilacético	ácido (1S,2S,4S)-Biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilacético
Ácido (1R,2S,5S)-3-Azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico	Ácido (1R,2S,5S)-3-Azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico
Ácido (1S,3R)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico	Ácido (1S,3R)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico
Ácido (1S,3R,4R)-2-Azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico	Ácido (1S,3R,4R)-2-Azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico
(2,4-Dioxoimidazolidin-1-il)ácido acético	(2,4-Dioxoimidazolidin-1-il)ácido acético
(2-CN)F	2-Ciano-L-fenilalanina

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
(2-Fluoro)F	2-Fluoro-L-fenilalanina
(2-Me)F	2-Metil-L-fenilalanina
(4-Piranoil)G	(2S)-(tetrahidro-2H-piran-4-il)ácido etanoico
(4-CF3)P	(2S,4S)-4-Trifluorometil-pirrolidina-2-ácido carboxílico
(3,3-Difluorociclobutil)ácido acético	(3,3-difluorociclobutil)ácido acético
(3-CN)F	3-Ciano-L-fenilalanina
(3-Fluoro)F	3-Fluoro-L-fenilalanina
(4-Fluoro)F	4-Fluoro-L-fenilalanina
5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico	5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico
D-(+)Biotina	D-(+)Biotina
(N,N-diMe)A	L-N,N-Dimetilalanina
(N,N-diMe)G	N,N-Dimetilglicina
(N-Isopropil-N-metilamino)acetil	2-(N-Isopropil-N-metilamino)ácido acético
((N-Me)A)	L-N-Metilalanina
((N-Me)a)	D-N-Metilalanina
((N-Me)C)	L-N-metilcisteína
(N-Me)F	L-N-metilfenilalanina
(N-Me)G	N-metil-glicina
(N-Me)I	L-N-metilisoleucina
(N-Ph)G	N-fenilglicina
Ácido (R)-3-Aminoadípico	Ácido (R)-3-Aminoadípico
Ácido (R)-4-Amino-6-metilheptanoico	Ácido (R)-4-Amino-6-metilheptanoico

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
Ácido (R)-Piperidin-3-carboxílico	Ácido (R)-Piperidin-3-carboxílico
Ácido (R)-Pirrolidin-3-carboxílico	Ácido (R)-Pirrolidin-3-carboxílico
Ácido (S)-(1-Piperidin-3-il)-acético	Ácido (S)-(1-Piperidin-3-il)-acético
Ácido (S)-2-Amino-3-etil-pentanoico	Ácido (S)-2-Amino-3-etil-pentanoico
Ácido (S)-3-(1-Pirrolidin-2-il)-propiónico	Ácido (S)-3-(1-Pirrolidin-2-il)-propiónico
(S)-3-(2H-Tetrazol-5-il)ácido propiónico	(S)-3-(2H-Tetrazol-5-il)ácido propiónico
ácido (S)-3-metilpentanoico	ácido (S)-3-metilvalérico
Ácido (S)-4-Piperazin-2-carboxílico	Ácido (S)-4-Piperazin-2-carboxílico
Ácido (S)-Piperidin-3-carboxílico	Ácido (S)-Piperidin-3-carboxílico
(S)-pirrolidina-3-ácido carboxílico	(S)-pirrolidina-3-ácido carboxílico
Ácido [(2R)-4,4-Difluoropirrolidin-2-il]acético	Ácido [(2R)-4,4-Difluoropirrolidin-2-il]acético
[(6S)-5-Azaspiro[2.4]hept-6-il]acético	[(6S)-5-Azaspiro[2.4]hept-6-il]ácido acético
1,1-Dioxidotetrahidro-2H-tiopiran-4-il)ácido acético	1,1-Dioxidotetrahidro-2H-tiopiran-4-il)ácido acético
1-Nal	L-1-Naftilalanina
2-(3-Piridil)ácido acético	2-(3-Piridil)ácido acético
Ácido 2-(Aminometil)benzoico	Ácido 2-(Aminometil)benzoico
2-(ciclohexilamino)acetil	Ácido 2-(Ciclohexilamino)acético
2-(Dietilamino)acetil	2-(Dietilamino)ácido acético
2-(Morfolino)acetil	2-(Morfolino)ácido acético
2-(N-metil-N-ciclopropilamino)acetil	2-(N-metil-N-ciclopropilamino)ácido acético
2-(Piperidin)acetil	2-(Piperidin)ácido acético
2-(pirrolidina)acetil	2-(pirrolidina)ácido acético

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
2-(Thian-4-il)ácido acético	2-(Tian-4-il)ácido acético
2-(Tiomorfolino)acetil	2-(Tiomorfolino)ácido acético
(2,3-Difluoro)F	2,3-Difluoro-L-fenilalanina
ácido 2-aminobenzoico	ácido 2-Aminobenzoico
2-Azaspiro[3.3]heptano-6-ácido carboxílico	2-Azaspiro[3.3]heptano-6-ácido carboxílico
(2-Bromo)F	L-2-Bromofenilalanina
(2-cloro)F	2-cloro-L-fenilalanina
ácido 2-Cianobenzoico	ácido 2-Cianobenzoico
ácido 2-Fluorobenzoico	ácido 2-Fluorobenzoico
2-hidroxiacetil	ácido 2-hidroxiacético
2-hidroxiisobutírico	ácido 2-hidroxiisobutírico
ácido 2-metilbenzoico	ácido 2-metilbenzoico
(2-Me)F	2-Metil-L-fenilalanina
2-Nal	L-2-Naftilalanina
2-Pal	L-2-Piridilalanina
beta-homo-P	ácido (2S)-Pirrolidina-2-ilacético
ácido 3-(2-Oxoimidazolidin-1-il)benzoico	ácido 3-(2-Oxoimidazolidin-1-il)benzoico
ácido 3-(3-Oxo-1,3,4,5,6,7-hexahidro-2H-indazol-2-il)benzoico	ácido 3-(3-Oxo-1,3,4,5,6,7-hexahidro-2H-indazol-2-il)benzoico
Ácido 3-(Aminometil)benzoico	Ácido 3-(Aminometil)benzoico
ácido 3-(Isobutirilamino)benzoico	ácido 3-(Isobutirilamino)benzoico
3-(Trifluorometil)biciclo[1,1,1]pent-1-il]ácido acético	3-(Trifluorometil)biciclo[1,1,1]pent-1-il]ácido acético
ácido 3-[(E)-(2-carboxiciclohexen-1-	ácido 3-[(E)-(2-carboxiciclohexen-1-

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
il)azo]benzoico	il)azo]benzoico
ácido 3-Acetamidobenzoico	ácido 3-Acetamidobenzoico
Ácido 3-Amino-2,2-dimetilpropionico	Ácido 3-Amino-2,2-dimetilpropionico
Ácido 3-Amino-3-metilbutírico	Ácido 3-Amino-3-metilbutírico
ácido 3-Aminobenzoico	ácido 3-Aminobenzoico
Ácido 3-Aminometilfenilacético	Ácido 3-Aminometilfenilacético
(3-Bromo)F	L-3-Bromofenilalanina
ácido 3-Carboxibenzoico	ácido 3-Carboxibenzoico
(3-cloro)F	3-Cloro-L-Fenilalanina
(3-cloro-Ph)G	3-clorofenilglicina
ácido 3-Cianobenzoico	ácido 3-Cianobenzoico
ácido 3-Fluorobenzoico	ácido 3-Fluorobenzoico
(3-Me)F	3-Metil-L-fenilalanina
ácido 3-Metoxipropiónico	ácido 3-Metoxipropiónico
ácido 3-metilbenzoico	ácido 3-metilbenzoico
3-Pal	L-3-Piridilalanina
Ácido 4-(Aminometil)benzoico	Ácido 4-(Aminometil)benzoico
ácido 4-Aminobenzoico	ácido 4-Aminobenzoico
Ácido 4-Aminometilfenilacético	Ácido 4-Aminometilfenilacético
(4-Amino)F	L-4-Aminofenilalanina
(4-Bromo)F	L-4-Bromofenilalanina
ácido 4-Carboxibenzoico	ácido 4-Carboxibenzoico
ácido 4-Cianobenzoico	ácido 4-Cianobenzoico
ácido 4-Fluorobenzoico	ácido 4-Fluorobenzoico
(4-Fluoro)L	4-Fluoro-L-leucina
4-metil-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-	4-metil-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
benzoxazina-8-ácido carboxílico	benzoxazina-8-ácido carboxílico
ácido 4-metilbenzoico	ácido 4-metilbenzoico
4-metilvalérico	ácido 4-metilpentanoico
4-Pal	L-4-Piridilalanina
ácido 4-Piperidinepropanoico	ácido 4-Piperidinepropanoico
4-Tetrahidropiranoil	4-Tetrahidropiranoil
5-clorotiofeno-2-ácido carboxílico	5-clorotiofeno-2-ácido carboxílico
8-aminocubano-1-ácido carboxílico	8-aminocubano-1-ácido carboxílico
AAD	ácido (S)-2-(Amino)-1,6-hexanodioico
Abu	ácido L-2-Aminobutírico
ACBA	1-Aminociclobutano-1-ácido carboxílico
ACBC	ácido Aminociclobutanocarboxílico
ACMP	Ácido 1-(Aminometil)-ciclopropil-1-carboxílico
S,S-ACPC	ácido (1S,2S)-2-Amino-1-ciclopentanocarboxílico
R,R-ACPC	ácido (1R,2R)-2-Amino-1-ciclopentanocarboxílico
ACPC	ácido rel-(1R,2S)-2-Amino-1-ciclopentanocarboxílico
ácido Adípico	ácido Adípico
Ahx	ácido 6-Aminohexanoico
Aib	Ácido 2-aminoisobutírico
(tBu)A	L-tert-butilalanina
allo-I	allo-L-Isoleucina
allo-T	allo-L-Treonina

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
(2-Me)P	2-metil-L-prolina
(Me)R	N(5)-metil-L-arginina
Azetidina-2-ácido carboxílico	(S)-Azetidina-2-ácido carboxílico
Benzoico	ácido Benzoico
beta-2-tienilalanina	L-2-Tienilalanina
beta-A	beta-Alanina
4-(3,5-Dimetil-1,2-oxazol-4-il)-L-fenilalanina	4-(3,5-Dimetil-1,2-oxazol-4-il)-L-fenilalanina
Ácido (2S)-2-amino-3-(4-tert-butilfenil)propanoico	Ácido (2S)-2-amino-3-(4-tert-butilfenil)propanoico
Ácido (2S)-2-Amino-5-metil-hexanoico	Ácido (2S)-2-Amino-5-metil-hexanoico
ácido (2S)-2-Amino-4,4,4-trifluorobutanoico	ácido (2S)-2-Amino-4,4,4-trifluorobutanoico
Ácido (2S)-3-(4-carboxifenil)-2-aminopropanoico	Ácido (2S)-3-(4-carboxifenil)-2-aminopropanoico
(2S)-2-amino-3-(4-carbamoilfenil)ácido propanoico	(2S)-2-amino-3-(4-carbamoilfenil)ácido propanoico
(2S)-2-Amino-3-(2,3,4,5,6-(pentafluorofenil)ácido propanoico	(2S)-2-Amino-3-(2,3,4,5,6-(pentafluorofenil)ácido propanoico
Ácido (2S)-3-(3-Cianofenil)-2-aminopropanoico	Ácido (2S)-3-(3-Cianofenil)-2-aminopropanoico
3-Azido-L-Alanina	3-Azido-L-Alanina
Ácido 2-Amino-5,5,5-trifluoro-4-metil-pentanoico	Ácido 2-Amino-5,5,5-trifluoro-4-metil-pentanoico
Ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico	Ácido (1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
Cba	L-ciclobutilalanina
Cbg	ácido (S)-2-Amino-2-ciclobutilacético
Cha	L-Ciclohexilalanina
Cha	D-ciclohexilalanina
Chg	L-Ciclohexilglicina
(Difluoro)P	L-4,4-Difluoroprolina
(cis-Fluoro)P	(2S,4S)-4-Fluoroprolina
Cit	L-Citrulina
Cnba	Ácido L-2-Amino-4-cianobutírico
3,3-dimetil-1,3-azasilolidina-5-ácido carboxílico	3,3-dimetil-1,3-azasilolidina-5-ácido carboxílico
(S)-(trifluorometil)-L-cisteína	(S)-(trifluorometil)-L-cisteína
Ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico	Ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico
Ácido (2S)-3-(indol-4-il)-2-(amino)propanoico	Ácido (2S)-3-(indol-4-il)-2-(amino)propanoico
Ácido (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico	Ácido (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico
CpA	L-Ciclopentilalanina
Cpg	L-ciclopentilglicina
ciclobutanecarboxílico	ácido ciclobutanocarboxílico
ciclobutilacético	2-(ciclobutil)ácido acético
ciclobutilglicina	L-ciclobutilglicina
ciclohexilacético	ácido ciclohexilacético
ácido ciclopentanocarboxílico	ácido ciclopentanocarboxílico
ciclopentilacético	ácido ciclopentilacético

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
ciclopropanocarboxílico	ácido ciclopropanocarboxílico
ácido ciclopropilacético	ácido ciclopropilacético
(2-cloro)f	D-2-Clorofenilalanina
Dab	ácido L-2,4-Diaminobutírico
Dap	ácido L-2,3-Diaminopropiónico
beta-p	D-beta-Prolina
hyp	D-Hidroxiprolina
(N-Benzil)D	Ácido (2S)-2-Amino-4-(benzilamino)-4-oxobutancarboxílico
Freidinger's Lactam	Ácido (2S)-2-[(3R)-3-Amino-2-oxopirrolidin-1-il]-4-metilpentanoico
ácido Fumárico	ácido Fumárico
Gamma-Abu	ácido Gamma-Aminobutírico
(tBu)G	L-tert-butilglicina
(1-Bn)H	1-Benzil-L-histidina
(1-Me)H	1-metil-L-histidina
(3-Me)H	L-3-metilhistidina
Homo-C	L-Homocisteína
Hoo	ácido L-Dihidroorótico
hidrocinámico	ácido 3-fenilpropanoico
Hyp	L-hidroxiprolina
Ida	Ácido iminodiacético
ácido Isobutírico	ácido Isobutírico
ácido Isonipecótico	ácido Isonipecótico
Isovalérico	ácido Isovalérico
K(ISP)	N-e-Isopropil-L-lisina

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
(3-Et)Nva	3-Etil-L-Norvalina
Láctico	L-(+)-ácido Láctico
(Bth)A	3-(1,3-Benzotiazol-2-il)-L-alanina
beta-P	(S)-pirrolidina-2-ácido carboxílico
L-Propargilglicina	L-Propargilglicina
Ácido Morfolin-3-carboxílico	(3S)-morfolino-3-ácido carboxílico
ácido Nicotínico	ácido Nicotínico
Nle	L-Norleucina
(N-Me)P	N-metil-L-prolina
Nva	L-Norvalina
ODD	ácido 1,18-Octadecanedioico
Oic	2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico
Orn	L-Ornitina
Palm	ácido Palmítico
PEG1(10 átomos)	Ácido 9-Amino-4,7-dioxanonanoico
PEG2(13 átomos)	Ácido 12-Amino-4,7,10-trioxadodecanoico
PEG3(16 átomos)	Ácido 15-Amino-4,7,10,13-tetraoxa(Pen)tadecanoico
PEG4(19 átomos)	Ácido 18-Amino-4,7,10,13,16-(Pen)taoxaoctadecanoico
PEG4-CH2CO2H (15 átomos)	Ácido 14-Amino-3,6,9,12-tetraoxatetradecanoico
PEG5(22 átomos)	Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oico

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
PEG5-CH2CO2H (18 átomos)	Ácido 17-Amino-3,6,9,12,15-(Pen)taoxaheptadecanoico
PEG7(25 átomos)	Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatetracosan-24-oico
PEG8(28 átomos)	Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxaheptacosan-27-oico
PEG9(31 átomos)	Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21,24,27-nonaoxatriacontan-30-oico
Pen	L-Penicilamina
Ácido fenilacético	Ácido fenilacético
Phg	L-fenilglicina
ácido Picolínico	ácido Picolínico
Pip	ácido L-Pipecólico
ácido Piperidina-4-ilacético	ácido Piperidina-4-ilacético
Piválico	ácido Piválico
(3S-OH)P	L-trans-3-hidroxiprolina
Pyr	ácido L-Piroglutámico
Ácido S-2-amino-3-etil-pentanoico	Ácido S-2-amino-3-etil-pentanoico
pirrolidinaacetil	2-(Pirrolidina-1-il)ácido acético
Ácido S-3-1-Pirrolidin-2-il-propiónico	Ácido S-3-1-Pirrolidin-2-il-propiónico
ácido Subérico	ácido Subérico
ácido tert-butilacético	ácido tert-butilacético
Tetrahidropiranil-4-ácido acético	Tetrahidropiranil-4-ácido acético
TFA	ácido Trifluoroacético
Thi	L-2-Tienilalanina

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
Ácido (2S,3S)-2-[(3R)-3-Amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico	Ácido (2S,3S)-2-[(3R)-3-Amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico
ácido (2S,3S)-2-[2-Oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico	ácido (2S,3S)-2-[2-Oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico
Ácido (2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico	Ácido (2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico
Ácido (1R,3S,5R)-2-Azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico	Ácido (1R,3S,5R)-2-Azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico
3-(Trimetilsilil)-L-alanina	3-(Trimetilsilil)-L-alanina
Ácido (6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico	Ácido (6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico
Ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(Trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico	Ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(Trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico
Ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico	Ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico
Ácido (2S)-2[(amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)]acético	Ácido (2S)-2[(amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)]acético
Ácido (2S,3S)-2-((Amino)meti)-3-metilpentanoico	Ácido (2S,3S)-2-((Amino)meti)-3-metilpentanoico
Ácido 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-carboxílico	Ácido 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-carboxílico
Ácido (2S)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético	Ácido (2S)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
Ácido (2R)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético	Ácido (2R)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético
(3-Carboxi)F	3-Carboxifenilalanina
2-Metil-D-aloisoleucina	2-Metil-D-aloisoleucina
4-Etil-L-norleucina	4-Etil-L-norleucina
L-2,6-Difluorofenilalanina	L-2,6-Difluorofenilalanina
(2,5-Difluoro)F	2,5-Difluoro-L-fenilalanina
Ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico	Ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico
Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético	Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético
Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3S)-3-hidroxiciclohexil]acético	Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3S)-3-hidroxiciclohexil]acético
Ácido 2-Amino-7-(*tert*-butoxi)-7-oxoheptanoico	Ácido 2-Amino-7-(*tert*-butoxi)-7-oxoheptanoico
Ácido (2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico	Ácido (2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico
ácido Tetrahidro-2H-piran-3-ilacético	ácido Tetrahidro-2H-piran-3-ilacético
Ácido rel-(1R,3S)-3-[(Amino)metil]ciclohexanecarboxílico	Ácido rel-(1R,3S)-3-[(Amino)metil]ciclohexanecarboxílico
Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1)	Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1)
Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico	Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico

Abreviatura/Expresión	**Abreviatura/Definición de la expresión**
(enantiómero 2)	(enantiómero 2)
Tranexámico	ácido Tranexámico
Ácido *trans*-2-(3-(Amino)ciclohexil)acético	Ácido *trans*-2-(3-(Amino)ciclohexil)acético
(trans-4-Fluoro)P	trans-4-Fluoroprolina
(Trifluoro)l/L	5,5,5-Trifluoro-DL-leucina
TTDS	Ácido 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridecan-succinámico
(R)-pirrolidina-3-ácido acético	(R)-pirrolidina-3-ácido acético
Pro-D2	L-prolina (3,4-$_2$H) (deuterado)
Ácido propiónico (2S)-2-(Morfolina-4-il)	Ácido propiónico (2S)-2-(Morfolina-4-il)
L-dehidroprolina	3,4-dehidro-L-prolina
Ácido (3S)-2-azaspiro[4.4]nonano-3-carboxílico	Ácido (3S)-2-azaspiro[4.4]nonano-3-carboxílico
(2R)-2-amino-3-(trifluorometilsulfanil)ácido propanoico	(2R)-2-amino-3-(trifluorometilsulfanil)ácido propanoico
Arg(13C6,15N4)	L-Arginina-N-Fmoc, Pbf-OH (13C6, 15N4)

El término “mimético”, usado en el contexto con algunos aminoácidos en la definición de varias fracciones del péptido de acuerdo con la fórmula (I) o la fórmula (II) de la presente invención, representa un aminoácido mimético respectiva, tal como p. ej. una arginina mimética, una isoleucina mimética o una prolina mimética. En general, una “proteína mimética” indica una molécula tal como un péptido, un péptido modificado o cualquier otra molécula que imita biológicamente la acción o actividad de alguna otra proteína. En el contexto con el uso del término “mimético” en relación con un determinado aminoácido, dicho

término “mimético” indica de forma análoga cualquier otro aminoácido, análogo de aminoácido, derivado de aminoácido, conjugado de aminoácido o similares, que imita biológicamente la acción o actividad del respectivo aminoácido.

Los miméticos de prolina de acuerdo con la presente invención comprenden en particular (1S,2S,5R)-3-Azabiciclo[3.1.0]hexano-2-ácido carboxílico, Hyp, morfolino-3-carboxílico, Pip, (4aR,6aR,9S,11aS)-11-Oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pyrido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepina-9-ácido carboxílico o (trans-4-Fluoro)P, (1R,2S,5S)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-ácido carboxílico, Oic, Hyp, (4-CF3)P, (cis-4-Fluoro)P, 3,3-dimetil-1,3-azasilolidina-5-ácido carboxílico, (3S-OH)P, (1R,3S,5R)-2-Azabiciclo[3.1.0]hexano-3-ácido carboxílico, (6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico, rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(Trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexano-3-ácido carboxílico, (2S,3aS,6aS)-Octahidrociclopenta[b]pirrola-2-ácido carboxílico o difluoroprolina, (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico (enantiómero 1), (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico (enantiómero 2) y prolinas sustituidas.

Los miméticos de isoleucina de acuerdo con la presente invención comprenden en particular (N-metil)-I, allo-Ile, Cba, Nva, Abu, Leu, Cpg, ciclohexil-gli, (S)-2-Amino-3-etil-ácido pentanoico, 3-cloro-Phg, allo-Ile, Chg, ciclobutilglicina, allo-Ile, Cbg, (2S,3S)-2-((Amino)metil)-3-metilácido pentanoico, Phg, 2-[(1S,2S)-1-(Amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-ácido carboxílico, 2-metil-D-alloisoleucina, Nva, Abu o Ala.

Los miméticos de leucina de acuerdo con la presente invención comprenden en particular (tBu)A, (2-cloro)F, (2-Bromo)F, AAD, ácido (2S)-2-Amino-4,4,4-trifluorobutanoico, Cnba, (4-Fluoro)L, (S)-(trifluorometil)-L-cisteína, (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)ácido propanoico, gli(tBu), 3-(Trimetilsilil)-L-alanina, ácido 2,5-difluoro-L-fenilalanina, 2-Amino-7-(tert-butoxi)-7-oxoheptanoico, 5,5,5-Trifluoro-L-leucina ((Trifluoro)L), (2-Me)F, Cba, Cpa, ciclopropilmetilalanina, trifluorometilalanina o difluorometilalanina, (2-Fluoro)F, (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminoácido propanoico, (2S)-3-(3-Cianofenil)-2-aminoácido pro-

panoico, 2-Amino-5,5,5-trifluoro-4-metil-ácido pentanoico, ácido (2S)-2-Amino-5-metil-hexanoico o (2S)-3-(indol-4-il)-2-(amino)ácido propanoico.

La invención comprende, además, análogos y derivados de los péptidos descritos. El término “análogo” o “derivado” de un péptido o una secuencia de aminoácido de acuerdo con la presente invención comprende en particular cualquier secuencia de aminoácido que tiene una identidad de secuencia de al menos 80% o al menos 85%, preferentemente al menos 90%, más preferentemente al menos 95%, e incluso más preferentemente de al menos 99% de identidad de dicha secuencia y propiedades o actividades iguales o comparables. La identidad de secuencia se puede determinar mediante técnicas frecuentes, tal como la comparación visual o mediante cualquier herramienta informática usada en el campo. Los ejemplos comprenden programas de BLAST usados con parámetros predeterminados.

Un análogo o derivado de un péptido o una secuencia de aminoácido de la invención puede dar como resultado cambios derivados de la mutación o variación en las secuencias de péptidos de la invención, incluida la eliminación o inserción de uno o más aminoácidos o la sustitución de uno o más aminoácidos, o incluso al empalme alternativo. Varias de estas modificaciones se pueden combinar. Preferentemente, un análogo de una secuencia de aminoácido de la invención comprende sustituciones conservadoras en relación con la secuencia de aminoácidos.

El término “sustitución conservadora” como se usa en la presente denota que uno o más aminoácidos se reemplazan por otro residuo biológicamente similar. Los ejemplos incluyen sustitución de residuos de aminoácido con características similares, p. ej., aminoácidos pequeños, aminoácidos acídicos, aminoácidos polares, aminoácidos básicos, aminoácidos hidrofóbicos y aminoácidos aromáticos. Consulte, por ejemplo, el esquema en la Tabla 4 a continuación, donde sustituciones conservadoras de aminoácidos se agrupan por propiedades fisicoquímicas. I: neutro, hidrofílico; II: ácidos y amidas; III: básico; IV: hi-

drofóbico; V: aromático, aminoácidos voluminosos, VI: neutro o hidrofóbico; VII: acídico; VIII: polar.

Tabla 4: Aminoácidos agrupados de acuerdo con sus propiedades fisicoquímicas

I	**II**	**III**	**I.V.**	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**
Ala	Asn	His	Met	Phe	Ala	Glu	Met
Ser	Asp	Arg	Leu	Tyr	Leu	Asp	Ser
Thr	Glu	Lys	Ile	Trp	Ile		Thr
Pro	Gln		Val		Pro		Cys
Gly			Cys		Gly		Asn
					Val		Gln

Un análogo o derivado de péptido también puede comprender una o más modificaciones adicionales tal como, p. ej., conjugación a otro compuesto para formar un conjugado de aminoácido.

Dicha modificación puede, de manera alternativa o adicional, dar como resultado la conjugación con las cadenas laterales de uno o más residuos de aminoácido en un péptido de la presente invención por ejemplo, un grupo químico como se define arriba en el contexto con el grupo químico X^0 o una fracción polimérica tal como un grupo de PEG. Dicha modificación puede, por ejemplo, aumentar la solubilidad y/o semivida *in vivo* (p. ej. en plasma) y/o biodisponibilidad del péptido y también se conoce que reduce la eliminación (p. ej. eliminación renal) de las proteínas y péptidos terapéuticos. Las modificaciones adecuadas son bien conocidos por los expertos y comprenden en particular, sin estar limitados por este, PEGilación de una o más cadenas laterales del péptido de la presente invención. En la presente, “PEGilación” representa el acto de acoplamiento (p. ej., de forma covalente) una estructura de polietilenglicol (PEG) con el péptido de la invención. El experto conoce bien los posibles PEG para el acoplamiento con las cadenas laterales del aminoácido de péptidos pequeños

para formar un conjugado respectivo, p. ej. de WO 2015/200916 A1, que se incorpora en la presente como referencia.

Todos los péptidos de esta invención a menos que se indique lo contrario son las sales de TFA. La invención comprende, además, sales farmacéuticamente aceptables de los péptidos como se define en la presente y formas libres de sal. En la presente, las sales farmacéuticamente aceptables representan sales o formas de iones dipolares de los péptidos o compuestos de la presente invención que son solubles o dispersables en agua o aceite, que son adecuados para el tratamiento de enfermedades sin una toxicidad, irritación y respuesta alérgica excesivas; que reflejan una relación beneficio/riesgo razonable y que son efectivas para su uso previsto. Las sales que se pueden preparar durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos o de forma separada al reaccionar un grupo amino con un ácido adecuado. Las sales de adición de ácido representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, benzenesulfonato, bisulfato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, carbonato, digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formato, fumarato, hidrocloruro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietansulfonato (isetionato), lactato, maleato, mesitilenesulfonato, metanosulfonato, naftilenesulfonato, nicotinato, 2- naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilproprionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, para-toluenesulfonato y undecanoato. Las sales de adición de ácido preferidas incluyen trifluoroacetato, formato, hidrocloruro y acetato.

Además, los grupos de amino en los compuestos de la presente invención se pueden cuaternizar con metilo, etilo, propilo y cloruros de butilo, bromuros y yoduros; dimetilo, dietilo, dibutilo y sulfatos de diamilo; decil, lauril, miristil y cloruros esteroles, bromuros y yoduros; y benzilo y bromuros fenetilos. Los ejemplos de ácidos que se pueden emplear para formar sales de adición aceptables terapéuticamente incluyen ácidos inorgánicos tales como ácidos hidroclóricos, hidrobrómicos, sulfúrico, y fosfóricos, y orgánicos tales como oxálicos, malei-

cos, succínicos y cítricos. Una sal farmacéuticamente aceptable puede ser adecuadamente una sal elegida, p. ej., entre sales de adición de ácido y sales básicas. Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales de cloruro, sales de citrato y sales de acetato.

Los ejemplos de sales básicas incluyen sales en donde el catión es seleccionado de cationes metálicos de alcali, tal como iones de sodio o potasio, cationes de metal alcalinotérreo, tal como iones de calcio o magnesio, así como iones de amonio sustituidos, tal como iones del tipo $N(R^1)(R^2)(R^3)(R^4)^+$, donde R^1, R^2, R^3 y R^4 independientemente el uno del otro designan hidrógeno, alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido o alquenilo C_{2-6} opcionalmente sustituido. Los ejemplos de grupos relevantes de alquilo C_{1-6} incluyen grupos de metilo, etilo, 1-propil y 2-propil. Ejemplos de grupos de alquenil C_{2-6} de posible relevancia incluyen etenil, 1-propenil y 2-propenil. En la presente, se prefieren las sales en donde el catión se selecciona entre el sodio, potasio y calcio.

Otros ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables se describen en *"Remington's Pharmaceutical Sciences", 17th edition, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985 (and more recent editions thereof), in the "Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology", 3rd edition, James Swarbrick (Ed.), Informa Healthcare USA (Inc.), NY, USA, 2007.* Además, para una revisión en las sales adecuadas, consulte *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by Stahl and Wermuth (Wiley- VCH, 2002)*. Otras sales base adecuadas se forman a partir de las bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos representativos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamino, diolamino, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamino, potasio, sodio, trometamino y zinc, preferentemente colina. Las hemisales de ácidos y bases también se pueden formar, p. ej., sales de hemisulfato y hemicalcio.

La invención comprende, además, solvatos de los péptidos como se definen en la presente. Por lo tanto, el término “solvato” se refiere a un complejo de estequiometría definido formado entre un soluto (p. ej., un péptido de acuerdo con

la invención o sal farmacéuticamente aceptable de este) y un solvente. El solvente en esta conexión puede, por ejemplo, ser agua, etanol u otra especie orgánica molecular en general pequeña farmacéuticamente aceptable, tal como, entre otros, ácido acético o ácido láctico. Cuando el solvente en cuestión es agua, dicho solvato en general se denomina un hidrato.

Los compuestos de acuerdo con la invención tienen propiedades farmacológicas útiles y se pueden usar para la prevención y tratamiento de trastornos en humanos y animales.

En el contexto de la presente invención, el término “tratamiento” o “tratar” incluye la inhibición, retraso, interrupción, mejora, atenuación, limitación, reducción, supresión, inversión o cura de una enfermedad, una afección, un trastorno, una lesión o deterioro de la salud, del desarrollo, curso o progresión de dichos estados y/o los síntomas de dichos estados. Aquí, el término “terapia” se comprende como sinónimo del término “tratamiento”.

En el contexto de la presente invención, los términos “prevención”, “profilaxis” o “precaución” se usan de forma sinónima y se refieran a la evasión o reducción del riesgo de contraer, padecer o tener una enfermedad, una afección, un trastorno, una lesión o un deterioro de la salud, un desarrollo o progresión de dichos estados y/o los síntomas de dichos estados.

El tratamiento o la prevención de una enfermedad, una afección, un trastorno, una lesión o un deterioro de la salud puede ocurrir de forma parcial o completa.

Los compuestos de acuerdo con la invención son particularmente adecuados para el tratamiento y/o prevención de trastornos cardiovasculares, cardiopulmonares, renales, pulmonares, fibróticos, tromboembólicos e inflamatorios.

Por consiguiente, los compuestos de acuerdo con la invención se pueden usar en medicamentos para el tratamiento y/o prevención de trastornos cardiovascular y cardiopulmonares y sus secuelas tal como, por ejemplo, enfermedades cardíacas inflamatorias, miocarditis, endocarditis, pericarditis, fiebre reumática con y sin implicación del corazón, pericarditis reumática aguda, endocarditis reumática aguda, miocarditis reumática aguda, enfermedades cardíacas reu-

máticas crónicas con y sin endocarditis, valvulitis, pericarditis, enfermedades cardíacas isquémicas tal como angina pectoris inestable e infarto de miocardio agudo, arritmias auriculares y ventriculares y deterioro de la conducción tal como, por ejemplo, bloqueos atrioventriculares de grado I-III, taquiarritmia supraventricular, fibrilación atrial, palpitación atrial, fibrilación ventricular, palpitación ventricular, taquiarritmia ventricular, taquicardia de Torsade de pointes, extrasístoles atriales y ventriculares, extrasístoles de unión AV, síndrome de disfunción sinusal, accidente cerebrovascular debido a oclusión y estenosis de las arterias cerebrales (infarto cerebral después de, p. ej., lesiones tromboembólicas, ateroescleróticas, infecciosas y vasculares inflamatorias), para el tratamiento y/o prevención de accidente cerebrovascular debido a hemorragia intracerebral o intracraneal, daño del tejido isquémico periférico (p. ej. gangrena ateroesclerótica) debido a enfermedades de las arterias, arteriolas y capilares (p. ej. lesiones tromboembólicas, ateroescleróticas, infecciosas y vasculares inflamatorias, endarteritis deformans u obliterans y disección de aneurisma), flebitis y tromboflebitis, para la prevención de trastornos después de procedimientos del sistema circulatorio, p. ej. síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, vasoplejía después de cirugía, síndrome poscardiotomía, hipotensión después del procedimiento e insuficiencia cardíaca, para la prevención y el tratamiento de la lesión por la reperfusión de isquemia y disfunción orgánica, por ejemplo, después de las terapias de trombólisis, angioplastias transluminales percutáneas (PTA), angioplastias coronarias transluminales percutáneas (PTCA), operaciones de bypass y trasplantes de corazón, pulmón, hígado y riñón, y para la prevención y el tratamiento de la función de injerto retrasado después del trasplante renal.

Los compuestos de acuerdo con la invención son, además, adecuados para el tratamiento del choque tal como choque cardiogénico, choque séptico y choque anafiláctico para la prevención de los daños de los órganos finales mediados por MASP.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención tienen acción antiinflamatoria y, por lo tanto, se pueden usar como antiinflamatorios para el tratamiento y/o prevención de la septicemia (SIRS), insuficiencia orgánica múltiple (MODS, MOF), trastornos inflamatorios del riñón, inflamaciones intestinales crónicas (IBD, enfermedad de Crohn, CU), pancreatitis, peritonitis, trastornos reumatoides, trastornos cutáneos inflamatorios y trastornos oculares inflamatorios.

En virtud de su perfil de actividad, los compuestos de acuerdo con la invención son particularmente adecuados para el tratamiento y/o prevención de secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de septicemia y síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.

Los compuestos de acuerdo con la invención son particularmente adecuados para el tratamiento y/o prevención de daño relacionado con la isquemia y/o reperfusión al corazón y el riñón y otros órganos en el contexto de intervenciones de resucitación y quirúrgicas, tal como, entre otros, operaciones de bypass, cirugía de la válvula cardíaca y cirugía del aneurisma aórtico,

Los compuestos de acuerdo con la invención también se pueden usar adicionalmente para prevenir los daños relacionados con la isquemia y/o reperfusión a los órganos o tejidos y también como aditivos para la perfusión y conservación de las soluciones de órganos, partes de órganos, tejidos o partes de tejidos de origen animal o humano, en particular para las intervenciones quirúrgicas o en el campo de la medicina de trasplante.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados para el tratamiento y/o prevención de enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y el sistema inmunitario incluidos, entre otros, la anemia hemolítica adquirida, el síndrome hemolítico urémico, hemoglobinuria paroxística nocturna [Marchiafava-Micheli], defectos de coagulación, púrpura y otras afecciones hemorrágicas, coagulación intravascular diseminada [síndrome de defibrinación], trombocitemia esencial (hemorrágica), púrpura fulminans, púrpura

trombocitopénica trombótica, púrpura alérgica, vasculitis alérgica, linfopenia y granulocitosis y sarcoidosis.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados para el tratamiento y/o prevención de las secuelas de diabetes mellitus tales como las complicaciones renales de diabetes mellitus, nefropatía diabética, glomerulonefrosis intracapilar, complicaciones oftálmicas de diabetes mellitus, retinopatía diabética, complicaciones neurológicas, polineuropatía diabética y complicaciones circulatorias tales como microangiopatía y gangrena.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados para el tratamiento y/o prevención de enfermedades inflamatorias del sistema nervioso tal como esclerosis múltiple, meningitis y encefalitis, meningitis y encefalitis bacteriana y vírica, encefalitis después de las vacunas, polineuropatía inflamatoria y polineuropatía en enfermedades infecciosas y parásitas.

Los compuestos de acuerdo con la invención son, además, adecuados para el tratamiento y/o prevención de enfermedades del ojo y sus anexos, tal como iridociclitis aguda y subaguda, degeneración coroidea, inflamación corioretiniana, inflamación corioretiniana en enfermedades infecciosas y parásitas, retinopatía de fondo y cambios vasculares retinianos, retinopatía proliferativa, degeneración de la mácula y polo posterior, degeneración retiniana periférica, degeneración macular relacionada con la edad (AMD) incluidos AMD seca (no exudativa) y húmeda (exudativa, neovascular), neovascularización coroidea (CNV), membranas neovasculares coroideas (CNVM), edema macular cistoide (CME), membranas epiretinianas (ERM) y perforaciones maculares, neovascularización coroidea asociada con la miopía, estrías angioides y vasculares, desprendimiento retiniano, retinopatía diabética, edema macular diabético (DME), lesiones atróficas e hipertróficas en el epitelio del pigmento retiniana, oclusión de la vena retiniana, oclusión de la vena retiniana coroidea, edema macular, edema macular asociado con la oclusión de la vena retiniana, trastornos del ojo y sus anexos después de procedimientos, p. ej. queratopatía después de la cirugía de cataratas.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados para el tratamiento y/o prevención de enfermedades del sistema respiratorio incluidos, a mero título enunciativo, neumonía vírica, bacteriana y micótica, neumonitis por radiación, neumoconiosis, alveolitis alérgica, enfermedad de las vías respiratorias debido a polvo en un órgano específico, p. ej. pulmón de agricultor, bronquitis, neumonitis y edema pulmonar debido a químicos, gases, humos y vapores, trastornos del pulmón intersticial inducido por medicamentos, síndrome de dificultad respiratoria en adultos (ARDS) y lesión pulmonar aguda (ALI), edema agudo de pulmón, enfermedades pulmonares intersticiales con fibrosis, enfermedad pulmonar reumatoide, trastornos respiratorios en otros trastornos del tejido conectivo difuso, tal como asociado al lupus eritematoso sistémico, esclerodermia y granulomatosis de Wegener.

Además, los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados para el tratamiento y/o prevención de enfermedades del sistema digestivo incluidos, a mero título enunciativo, la enteritis y colitis no infecciosas tal como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, pancreatitis (incluida la pancreatitis aguda inducida por el alcohol y drogas), colecistitis, enfermedades hepáticas inflamatorias, síndrome hepatorrenal, trastornos de hígado después de procedimientos, p. ej. después de la cirugía hepática.

En virtud de su perfil de actividad, los compuestos de acuerdo con la invención son particularmente adecuados para el tratamiento y/o prevención de enfermedades del sistema genitourinario incluidos, a mero título enunciativo, insuficiencia renal aguda, lesión renal aguda (AKI), AKI asociada con la cirugía, AKI asociado con la septicemia, AKI inducida por medios de contraste y quimioterapia, isquemia e infarto del riñón, complicaciones tal como hipersensibilidad en el contexto de hemodiálisis y hemodiafiltración, cistitis, cistitis por irradiación, enfermedades inflamatorias de la próstata y endometriosis.

Los compuestos de acuerdo con la invención son, además, adecuados para el tratamiento y/o prevención de las secuelas de quemaduras y lesiones incluidos, a mero título enunciativo, complicaciones tempranas de trauma, anuria traumá-

tica, síndrome del aplastamiento, insuficiencia renal después de aplastamiento, isquemia traumática del músculo, lesión cerebral traumática, daño de órganos después de la exposición a la corriente eléctrica, radiación y temperatura y presión ambiente extremas, después de la exposición a humo, fuego y llamas, después del contacto con animales y plantas venenosos.

En virtud de su perfil de actividad, los compuestos de acuerdo con la invención son, además, adecuados para el tratamiento de enfermedades cutáneas inflamatorias, por ejemplo, lupus eritematoso cutáneo, trastornos bullosos y enfermedades cutáneas acantolíticas tales como subtipos de pénfigos, trastornos papuloescamosos tales como psoriasis, dermatitis y eccema, urticaria y eritema.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de estos para usar en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de estos para usar en la prevención y/o el tratamiento de trastornos asociados con MASP.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, que funciona como un inhibidor de MASP-1 y/o MASP-2 y/o que inhibe la deposición de C3, para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de trastornos asociados con MASP.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de este para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de trastornos cardiovasculares y cardiopulmonares, choque, trastornos inflamatorios, secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de septicemia, daño por isquemia y/o reperfusión, lesión renal aguda, protección de trasplante y función del injerto retrasado, enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y el sistema inmunitario, secuelas de la diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias del sistema nervioso, enfermedades del ojo, enfermedades de la piel, enfermedades del sistema respiratorio, digestivo o genitourinario y secuelas de quemaduras y lesiones.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en, o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de este para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de enfermedades del sistema genitourinario incluidos, a mero título enunciativo, insuficiencia renal aguda, lesión renal aguda (AKI), AKI asociada con cirugía, AKI asociada con septicemia, AKI inducida por medios de contraste y quimioterapia, isquemia e infarto del riñón, complicaciones tal como hipersensibilidad en el contexto de hemodiálisis y hemodiafiltración, cistitis, cistitis por irradiación, enfermedades inflamatorias de la próstata y endometriosis.

La invención se relaciona, además, con un método para tratar o mejorar los trastornos asociados con MASP, como se define arriba, en un sujeto o paciente al administrar al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de este, un complejo o una composición farmacéutica como se define arriba, a dicho sujeto o paciente que lo necesita.

Como se usa en la presente, los términos “paciente”, “sujeto” o “individuo” se pueden usar de forma intercambiable y referirse a un ser humano o a un animal no humano. Estos términos incluyen mamíferos tales como humanos, primates, animales de ganado (p. ej., bovinos, porcinos), animales de compañía (p. ej., caninos, felinos) y roedores (p. ej., ratones y ratas). El término “mamífero” se refiere a cualquier especie de mamífero tal como un humano, ratón, rata, perro, gato, hámster, conejillo de indias, conejo, animal de ganado y similares.

De acuerdo con la invención al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o la sal farmacéuticamente aceptable o solvato de este, o el complejo como se define arriba se administra a un paciente o sujeto en una cantidad terapéuticamente efectiva, donde a “cantidad terapéuticamente efectiva” de un compuesto de la presente invención tiene como propósito describir una cantidad suficiente de un compuesto de la presente invención para tratar un trastorno asociado con MASP como se define en la presente. En realizaciones particulares, la cantidad terapéuticamente efectiva logrará una relación beneficio/riesgo deseada aplicable a cualquier tratamiento médico.

La presente invención comprende particularmente las siguientes realizaciones, donde los sustituyentes o fracciones del péptido de acuerdo con la fórmula (I) o la fórmula (II) como se define a continuación, pueden tener de forma independiente los significados según se describen a continuación.

Un péptido o un compuesto que contiene un péptido, o derivado o análogo de este como se define en la presente o la sal farmacéuticamente aceptable o solvato de este o el complejo o la composición farmacéutica (como se define a continuación), se definen en la presente como “péptido inhibitorio de MASP de la presente invención”.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención se une a MASP-1 y/o MASP-2, p. ej. MASP-1 y/o MASP-2 humano. En determinadas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención se une específicamente a MASP-1 y/o MASP-2 humano. Como se usa en la presente, “se une específicamente” se refiere a una interacción preferen-

cial del agente enlazante específico, un ligando determinado por encima de otros agentes en una muestra. Por ejemplo, un agente enlazante específico que se une específicamente a un ligando determinado se une al ligando determinado, en condiciones adecuadas, en una cantidad o un grado que se observa por encima de cualquier interacción no específica con otros componentes en la muestra. Las condiciones adecuadas son aquellas que permiten la interacción entre un agente enlazante específico determinado y un ligando determinado. Estas condiciones incluyen pH, temperatura, concentración, solvente, tiempo de incubación y similares y pueden diferir en pares de ligandos y agentes enlazantes específicos determinados, pero se pueden determinar fácilmente por los expertos en la técnica. En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención une MASP-1 y/o MASP-2 con una mayor especificidad que un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP (p. ej. cualquiera de los compuestos de referencia de los péptidos inhibitorios de MASP proporcionados en la presente).

La invención se refiere, además, a un complejo que comprende al menos un péptido o compuesto que contiene un péptido, derivado o análogo como se define en la presente ligado a MASP-1 o MASP-2.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe una unión específica a MASP-1 y/o MASP-2, especialmente a MASP-1 y/o MASP-2 humano, que es al menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% superior que un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe una unión específica de MASP-1 y/o MASP-2, especialmente MASP-1 y/o MASP-2 humano, que es al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 pliegues, o al menos aproximadamente 10, 20, 50 o 100 pliegues superior que un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe una afinidad de unión a MASP-1 y/o MASP-2 que es al menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% superior que un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe una afinidad de unión MASP-1 y/o MASP-2 que es al menos aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5 pliegues, o al menos aproximadamente 10, 20, 50, 100 o 1000 pliegues superior que un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe una inhibición de la actividad de MASP-1 y/o MASP-2 (p. ej., MASP-1 y/o MASP-2 rata o humano). En algunas realizaciones, la actividad es una actividad *in vitro* o *in vivo*, p. ej. una actividad *in vitro* o *in vivo* descrita en la presente. En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención inhibe al menos aproximadamente el 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% de la actividad de MASP-1 y/o MASP-2 inhibida por un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En determinadas realizaciones, el péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180 o 200 veces mayor inhibición de MASP-1 y/o MASP-2 que un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En realizaciones particulares adicionales, la actividad inhibitoria de MASP-1 y/o MASP-2 del péptido inhibitorio de los MASP de acuerdo con la presente invención se determina al medir su IC_{50} para MASP-1 y/o MASP-2 (p. ej., MASP-1 y/o MASP-2 humano o rata). La determinación del IC_{50} para MASP-1 y/o MASP-2 se puede realizar con los ensayos bioquímicos que se muestran en la presente. Se prefiere particularmente que un péptido inhibitorio de MASP de la

presente invención exhiba un IC_{50} para MASP-1 y/o MASP-2 de <1000 nM, preferentemente ≤500 nM, más preferentemente ≤300 nM, más preferentemente ≤250 nM, más preferentemente ≤200 nM, más preferentemente ≤150 nM, más preferentemente ≤100 nM, más preferentemente ≤75 nM, más preferentemente ≤50 nM, más preferentemente ≤45 nM, más preferentemente ≤40 nM, más preferentemente ≤35 nM, más preferentemente ≤30 nM.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención tiene un IC_{50} más bajo (es decir, afinidad de unión más elevada) para MASP-1 y/o MASP-2, (p. ej., MASP-1 y/o MASP-2 humano o rata) en comparación con un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado. En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de acuerdo con la presente invención tiene un IC_{50} en un ensayo de unión competitivo de MASP-1 y/o MASP-2 que es al menos aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% más bajo que el de un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe al menos aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% o mayor que 99%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% mayor inhibición *in vitro* de la actividad de MASP-1 y/o MASP-2 humano que la de un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe al menos aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% o mayor que 99%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% mayor inhibición *in vivo* de la actividad de MASP-1 y/o MASP-2 humano que la de un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

Como se usa en la presente, en determinadas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP que tiene una “actividad inhibitoria de MASP-1 y/o MASP-2” sig-

nifica que el compuesto tiene la capacidad de inhibir la deposición C3 *in vitro* o en sujetos (p. ej. ratones o humanos), cuando se administra (p. ej. mediante la vía parenteral, p. ej. mediante inyección o por la vía pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, cutánea, transcutánea, conjuntival, óptica o como implante o stent administrado oralmente), en una manera dependiente de la dosis y el tiempo.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe una inhibición de la deposición C3 (p. ej., deposición C3 humana). En algunas realizaciones, la inhibición de la deposición C3 se determina mediante una inhibición *in vitro* o *in vivo*. En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención inhibe al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, 200%, 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% de la deposición C3 inhibida por un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En determinadas realizaciones, el péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180 o 200 veces mayor inhibición de la deposición C3 que un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En realizaciones particulares adicionales, la actividad inhibitoria de MASP-1 y/o MASP-2 del péptido inhibitorio de los MASP de acuerdo con la presente invención se determina al medir su IC_{50} para inhibición de la deposición C3 *in vitro* o en sujetos (p. ej. ratones o humanos). La determinación del IC_{50} para la deposición C3 se puede realizar con el ensayo de deposición C3 humano que se muestra en la presente. Se prefiere particularmente que un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhiba un IC_{50} para la deposición C3 de <1000 nM, preferentemente ≤500 nM, más preferentemente ≤300 nM, más preferentemente ≤250 nM, más preferentemente ≤200 nM, más preferentemente ≤150 nM, más preferentemente ≤100 nM, más preferentemente ≤75 nM, más

preferentemente ≤50 nM, más preferentemente ≤45 nM, más preferentemente ≤40 nM, más preferentemente ≤35 nM, más preferentemente ≤30 nM.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe al menos aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% o mayor que 99%, 100%, 200% 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% mayor inhibición *in vitro* de la deposición C3 que la de un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

En algunas realizaciones, un péptido inhibitorio de MASP de la presente invención exhibe al menos aproximadamente 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97%, 98%, 99% o mayor que 99%, 100%, 200% 300%, 400%, 500%, 700%, 1000% o 10.000% mayor inhibición *in vivo* de la deposición C3 que la de un compuesto de referencia del péptido inhibitorio de MASP seleccionado.

Se prefiere particularmente que un péptido de acuerdo con la presente invención funcione como un péptido inhibitorio de MASP y su actividad se determina de acuerdo con al menos uno de los ensayos especificados y/o los estudios *in vivo* de acuerdo con los ejemplos de la presente invención.

Debido a la actividad inhibitoria de MASP-1 y/o MASP-2 y actividad inhibitoria de deposición C3 mencionadas arriba, un compuesto que contiene el péptido o el péptido de la presente invención (incluidos análogos, derivados y sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de estos, así como el complejo mencionado arriba) son adecuados para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de los trastornos asociados con MASP-1 y/o MASP-2.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, que funciona como un inhibidor de MASP-1 y/o MASP-2 y/o que inhibe la deposición C3.

Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden usar solos o en combinación con otros compuestos activos si es necesario. La presente invención se refiere, además, a medicamentos que contienen al menos uno de los compuestos de acuerdo con la invención y uno o más compuestos activos adicionales, en particular para el tratamiento y/o profilaxis de las enfermedades mencionadas arriba. Como compuestos activos de combinación adecuada, podemos mencionar, por ejemplo, y preferentemente:

- compuestos que inhiben la degradación del monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) y/o monofosfato de adenosina cíclico (cAMP), por ejemplo, inhibidores de fosfodiesterasas (PDE) 1, 2, 3, 4 y/o 5, en particular inhibidores de PDE 4 tal como roflumilast o revamilast e inhibidores de PDE 5 tal como sildenafil, vardenafil, tadalafil, udenafil, dasantafil, avanafil, mirodenafil o lodenafil;
- Estimuladores no independientes pero dependientes de hemo de la ciclasa de guanilato, en particular riociguat, nelociguat, vericiguat y los compuestos descritos en WO 00/06568, WO 00/06569, WO 02/42301, WO 03/095451, WO 2011/147809, WO 2012/004258, WO 2012/028647 y WO 2012/059549;
- Activadores no independientes e independientes de hemo de la ciclasa de guanilato, en particular runcaciguat, BI 703704 y los compuestos descritos en WO2012/139888, WO 2001/019780 y WO2014/012934;
- Los análogos de prostaciclina y los agonistas del receptor IP, por ejemplo, y preferentemente iloprost, beraprost, treprostinil, epoprostenol, NS-304, selexipag o ralinepag;
- Los antagonistas del receptor de endotelina, por ejemplo, y preferentemente bosentan, darusentan, ambrisentan, macicentan o sitaxsentan;
- Los antagonistas del receptor de vasopresina, por ejemplo, tolvaptan, conivaptan, relcovaptan;

- Los inhibidores de la elastasa del neutrófilo humano (HNE), por ejemplo, y preferentemente sivelestat o DX-890 (Reltran);
- los compuestos que inhiben la cascada de transducción de la señal, en particular a partir del grupo de los inhibidores de las tirosinas-cinasas, por ejemplo, y preferentemente dasatinib, nilotinib, bosutinib, regorafenib, sorafenib, sunitinib, cediranib, axitinib, telatinib, imatinib, brivanib, pazopanib, vatalanib, gefitinib, erlotinib, lapatinib, canertinib, lestaurtinib, pelitinib, semaxanib, masitinib o tandutinib;
- los moduladores de transducción de la señal a partir del grupo de la cinasa ASK1, por ejemplo, selonsertib;
- los inhibidores de la cinasa Rho , por ejemplo, y preferentemente fasudil, Y-27632, SLx-2119, BF-66851, BF-66852, BF-66853, KI-23095 o BA-1049;
- los ingredientes activos que reducen la permeabilidad de la pared vascular (formación de edema), a modo de ejemplo, y con inhibidores de preferencia de la vía de señalización ALK1-Smad1/5, los inhibidores de las vías de señalización VEGF y/o PDGF, inhibidores de la ciclooxigenasa, los inhibidores del sistema kallikrein-kinin o inhibidores de las vías de señalización esfingosina-1-fosfato;
- corticosteroides, por ejemplo, cortisona, cortisol, prednisolona, metilprednisolona, triamcinolona o dexametasona;
- ingredientes activos que reducen el daño a los órganos bajo estrés oxidativo, a modo de ejemplo, y con inhibidores de preferencia del sistema de complementos, especialmente los antagonistas del receptor C5a del complemento, anticuerpos contra C5 o agonistas del receptor 5-HT1A;
- moduladores, estimulantes y potenciadores del factor de transcripción Nrf2, por ejemplo, CXA-10, Oltipraz, dimetil fumarato o Bardoxolona;

- adrenomedulina y derivados de adrenomedulina, por ejemplo, adrenomedulina pegilada y agentes estabilizadores de adrenomedulina, por ejemplo, adrecizumab;
- compuestos que inhiben el factor prolil hidroxilasa inducible de hipoxia (inhibidores de HIF-PH), por ejemplo, molidustat, vadadustat, roxadustat, daprodustat o desidustat;
- compuestos que inhiben la inducción de la muerte celular y vía de apóptosis, por ejemplo, QPI-1002;
- agonistas de C-Met y miméticos del factor de crecimiento de hepatocitos, por ejemplo, refanalin;
- alcalina fosfatasa y alcalina fosfatasa recombinante;
- compuestos que inhiben la respuesta inflamatoria y la proliferación del linfocito T, por ejemplo, los compuestos antagonistas de CD28 tal como Reltecimod;
- compuestos que modulan la activación de las células T Th17, por ejemplo, moduladores del factor de transcripción RORc/ROR-gamma;
- compuestos que antagonizan la respuesta del linfocito T Th17, por ejemplo, anticuerpos contra IL-17 y contra IL-23, por ejemplo, Ixekizumab, Secukinumab, Brodalumab, Ustekinumab, Guselkumab o PTG-200;
- agentes antitrombóticos, por ejemplo, y preferentemente a partir del grupo de inhibidores de agregación de plaquetas, anticoagulantes o sustancias profibrinolíticas;
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un inhibidor de agregación de plaquetas, por ejemplo, y preferentemente aspirina, clopidogrel, ticlopidina o dipiridamol.
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un inhibidor de trom-

bina, por ejemplo, y preferentemente ximelagatran, melagatran, dabigatran, bivalirudin o Clexane.

- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un antagonista de GPIIb/IIIa, por ejemplo, y preferentemente tirofiban o abciximab.
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un inhibidor del factor Xa, por ejemplo, y preferentemente rivaroxaban, apixaban, fidexaban, razaxaban, fondaparinux, idraparinux, DU-176b, PMD-3112, YM-150, KFA-1982, EMD-503982, MCM-17, MLN-1021, DX 9065a, DPC 906, JTV 803, SSR-126512 o SSR-128428.
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con heparina o un derivado de la heparina de peso molecular bajo (LMW).
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con inhibidores directos del factor de coagulación XI, inhibidores de la expresión del factor de coagulación XI y anticuerpos contra la coagulación del factor XI tal como Xisomab 3G3;
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un antagonista del receptor de mineralocorticoide, por ejemplo, y preferentemente espironolactona, eplerenona o finerenona.
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un diurético, por ejemplo, y preferentemente furosemida, bumetanida, Torsemida, bendroflumetiazida, clortiazida, hidroclortiazida, hidroflumetiazida, meticlotiazida, politiazida, triclormetiazida, clortalidona, indapamida, metolazona, quine-

tazona, acetazolamida, diclorfenamida, metazolamida, glicerol, isosorbida, manitol, amilorida o triamtereno.

- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un agonista PPAR-gamma, por ejemplo, y preferentemente pioglitazona o rosiglitazona.
- En una realización preferida de la invención, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en combinación con un agonista PPAR-delta, por ejemplo, y preferentemente GW 501516 o BAY 68-5042,

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprende, que consiste esencialmente en o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales seleccionados del grupo que consiste en inhibidores de fosfodiesterasas, estimulantes o activadores de la ciclasa de guanilato, agonistas del receptor IP, antagonista del receptor mineralocorticoide, diurético, agonista de PPAR-gamma, agonista de PPAR-gamma, corticosteroides, ingredientes activos que reducen el daño a los órganos bajo estrés oxidativo, compuestos que inhiben la inducción de la muerte celular y vía de apóptosis, compuestos que inhiben la respuesta inflamatoria y proliferación del linfocito T, agentes antitrombóticos, inhibidor de agregación de plaquetas, inhibidor de trombinas, antagonista de GPIIb/IIIa, inhibidor del factor Xa, heparina o derivado de heparina de peso molecular bajo (LMW) e inhibidores del factor de coagulación XI.

La invención se refiere, además, una combinación de kit de partes que comprende al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de estos, un complejo o una composición farmacéutica como se define arriba y al menos un seleccionado

de un reactivo, dispositivo médico, carta de instrucción o cualquier combinación de estos.

La invención se refiere, además, a un dispositivo médico que comprende al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o a sal farmacéuticamente aceptable o solvato de este, un complejo o una composición farmacéutica como se define arriba, para el suministro del péptido, derivado, análogo o complejo de este o de la composición farmacéutica a un sujeto.

La composición farmacéutica, una combinación de kit de partes o dispositivo médico como se define arriba es en particular para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de los trastornos o enfermedades como se define en la presente.

Es posible que el péptido inhibitorio de MASP de la presente invención tenga actividad sistémica y/o local. Con este fin, se pueden administrar de una manera adecuada, tal como, por ejemplo, a través de la vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, vaginal, cutánea, transcutánea, conjuntival, ótica o como un implante o stent.

Para estas vías de administración, es posible que los compuestos de acuerdo con la invención se administren en formas de administración adecuadas.

Para la administración oral, es posible formular los compuestos de acuerdo con la invención con las formas de dosificación conocidas en la técnica que suministran los compuestos de la invención rápidamente y/o de una manera modificada, tal como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos recubiertos y no recubiertos, por ejemplo, con recubrimientos entéricos o de liberación controlada que se disuelven con un retraso o son insolubles), comprimidos que se desintegran oralmente, películas/obleas, películas/liofilisatos, cápsulas (por ejemplo, cápsulas duras o blandas de gelatina), comprimidos recubiertos de azúcar, gránulos, granulados, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o soluciones. Es posible incorporar los compuestos de acuerdo con la invención en forma cristalina y/o amorfisada y/o disuelta en dichas formas de dosificación.

La administración parenteral se puede realizar con la omisión de un paso de absorción (por ejemplo, intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intraespinal o

intralumbar) o con la inclusión de la absorción (por ejemplo, intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal, intraocular). Las formas de administración que son adecuadas para la administración parenteral son, *inter alia*, preparaciones para inyección e infusión en la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, liofilisatos o polvos estériles.

Los ejemplos que son adecuados para otras vías de administración son las formas farmacéuticas para la inhalación [*inter alia* inhaladores en polvo, nebulizadores], gotas nasales, soluciones nasales, aerosoles nasales; comprimidos/películas/obleas/cápsulas para la administración lingual, sublingual o bucal; supositorios; gotas de los ojos, ungüentos de los ojos, baños oculares, inserciones oculares, gotas para los oídos, aerosoles para los oídos, polvos para los oídos, enjuagues para los oídos, tampones para los oídos; cápsulas vaginales, aplicación tópica, suspensiones acuosas (lociones, *mixturae agitandae*), suspensiones lipofílicas, emulsiones, ungüentos, cremas, sistemas terapéuticos transcutáneos (tal como, por ejemplo, parches), leches, pastas, espumas, polvos para espolvorear, implantes o stents.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en combinación con uno o más excipientes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente adecuados.

Los compuestos de acuerdo con la invención se pueden incorporar en las formas de administración indicadas. Esto se puede lograr en una manera conocida por sí misma al mezclarla con excipientes farmacéuticamente aceptables. Los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, *inter alia*,

- rellenos y portadores (por ejemplo, celulosa, celulosa microcristalina (tal como, por ejemplo, Avicel®), lactosa, manitol, almidón, fosfato de calcio (tal como, por ejemplo, Di-Cafos®)),

- bases de ungüento (por ejemplo, vaselina, parafinas, triglicéridos, ceras, cera de lana, alcoholes de cera de lana, lanolina, ungüento hidrofílico, polietilenglicoles),
- bases para supositorios (por ejemplo, polietilenglicoles, manteca de cacao, grasa dura),
- solventes (por ejemplo, agua, etanol, isopropanol, glicerol, propileno glicol, aceites grasos de triglicéridos de cadena mediana en longitud, polietilenglicoles líquidos, parafinas),
- surfactantes, emulsificantes, dispersantes o humidificantes (por ejemplo, dodecil sulfato de sodio), lecitina, fosfolípidos, alcoholes grasos (tal como, por ejemplo, Lanette®), ésteres de ácido graso sorbitano (tal como, por ejemplo, Span®), ésteres de ácido graso sorbitano de polioxietileno (tal como, por ejemplo, Tween®), glicéridos de ácido graso de polioxietileno (tal como, por ejemplo, Cremophor®), ésteres de ácido graso de polioxetileno, éteres de alcohol graso de polioxietileno, ésteres de ácido graso glicerol, poloxámeros (tal como, por ejemplo, Pluronic®),
- tampones, ácidos y bases (por ejemplo, fosfatos, carbonatos, ácido cítrico, ácido acético, ácido hidroclórico, solución de hidróxido de sodio, carbonato de amonio, trometamol, trietanolamino),
- agentes de isotonicidad (por ejemplo, glucosa, cloruro de sodio),
- adsorbentes (por ejemplo, sílices altamente dispersos),
- agentes de aumento de la viscosidad, formadores de gel, espesantes y/o aglutinantes (por ejemplo, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa-sodio, almidón, carbómeros, ácidos poliacrílicos (tal como, por ejemplo, Carbopol®); alginatos, gelatina),
- desintegrantes (por ejemplo, almidón modificado, carboximetilcelulosa-sodio, almidón glicolato de sodio (tal como, por ejemplo, Explotab®), poli-

vinilpirrolidona conectado cruzado, croscarmelosa-sodio (tal como, por ejemplo, AcDiSol®)),

- reguladores de flujo, lubricantes, deslizantes y agentes de liberación de moho (por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico, talco, sílices altamente dispersos (tal como, por ejemplo, Aerosil®)),
- materiales de recubrimiento (por ejemplo, azúcar, goma laca) y formadores de película para películas o membranas de difusión que se disuelven rápidamente o de manera modificada (por ejemplo, polivinilpirrolidonas (tal como, por ejemplo, Kollidon®), alcohol polivinílico, hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, etilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, poliacrilatos, polimetacrilatos tal como, por ejemplo, Eudragit®)),
- materiales de cápsula (por ejemplo, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa),
- polímeros sintéticos (por ejemplo, polilácticos, poliglicolidos, poliacrilatos, polimetacrilatos (tal como, por ejemplo, Eudragit®), polivinilpirrolidonas (tal como, por ejemplo, Kollidon®), alcoholes polivinílicos, acetatos polivinílicos, óxidos de polietileno, polietilenglicoles y sus copolímeros y bloquecopolímeros),
- plastificantes (por ejemplo, polietilenglicoles, propilenglicol, glicerol, triacetina, citrato triacetilo, ftalato dibutilo),
- potenciadores de penetración,
- estabilizantes (por ejemplo, antioxidantes tal como, por ejemplo, ácido ascórbico, palmitato ascorbil, ascorbato de sodio, butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, propil gallato),
- conservantes (por ejemplo, parabenos, ácidos sórbicos, tiomersal, cloruro de benzalconio, acetato de clorhexidina, benzoato de sodio),
- colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos tal como, por ejemplo, óxidos de hierro, dióxido de titanio),
- saborizantes, endulzantes, agentes de enmascarado de sabor y/u olor.

La presente invención se refiere, además, a una composición farmacéutica que comprende al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de estos o un complejo como se define arriba.

En particular, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de estos o un complejo como se define arriba, convencionalmente juntos con uno o más excipientes farmacéuticamente adecuados y a su uso de acuerdo con la presente invención.

Una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede comprender al menos un ingrediente activo adicional, tal como preferentemente un ingrediente activo adicional que es activo en la profilaxis y/o tratamiento de los trastornos o enfermedades como se define en la presente.

Al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o la sal farmacéuticamente aceptable o solvato de estos o el complejo o las composiciones farmacéuticas como se define arriba se pueden administrar por vía enteral o parenteral, incluidas la inyección e infusión intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intrasternal, subcutánea, intracutánea e intraarticular, por vía oral, intravaginal, intraperitoneal, intrarectal, tópica o bucal. Las formulaciones adecuadas para las vías de administración respectivas son bien conocidas por los expertos e incluyen, a mero título enunciativo: píldoras, comprimidos, comprimidos con recubrimiento entérico, comprimidos con películas, comprimidos de casa, formulaciones de liberación sostenida o extendida para la administración oral, apósitos, formulaciones tópicas de liberación extendida, grageas, pesarios, geles, ungüentos, jarabe, gránulos, supositorios, emulsiones, dispersiones, microcápsulas, microformulaciones, nanoformulaciones, formulaciones liposomales, cápsulas, cápsulas con recubrimiento entérico, polvos, polvos de inhalación, formulaciones microcristalinas, aerosoles de inhalación, polvos, go-

tas, gotas nasales, aerosoles nasales, aerosoles, ampollas, soluciones, jugos, suspensiones, soluciones de infusión o soluciones de inyección, etc.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en combinación con uno o más excipientes inertes no tóxicos farmacéuticamente aceptables para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de trastornos cardiovasculares y cardiopulmonares, choque, trastornos inflamatorios, secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de septicemia, daño por isquemia y/o reperfusión, lesión renal aguda, protección de trasplante y función del injerto retrasado, enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y el sistema inmunitario, secuelas de la diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias del sistema nervioso, enfermedades del ojo, enfermedades de la piel, enfermedades del sistema respiratorio, digestivo o genitourinario y secuelas de quemaduras y lesiones.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consisten esencialmente en o que consisten en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales seleccionados del grupo que consiste en inhibidores de fosfodiesterasas, estimulantes o activadores de la ciclasa de guanilato, agonistas del receptor IP, antagonista del receptor mineralocorticoide, diurético, agonista de PPAR-gamma, agonista de PPAR-gamma, corticosteroides, ingredientes activos que reducen el daño a los órganos bajo estrés oxidativo, compuestos que inhiben la inducción de la muerte celular y vía de apóptosis, compuestos que inhiben la respuesta inflamatoria y proliferación del linfocito T, agentes antitrombóticos, inhi-

bidor de agregación de plaquetas, inhibidor de trombinas, antagonista de GPIIb/IIIa, inhibidor del factor Xa, heparina o derivado de heparina de peso molecular bajo (LMW) e inhibidores del factor de coagulación XI para el uso en la profilaxis y/o tratamiento de trastornos cardiovasculares y cardiopulmonares, choque, trastornos inflamatorios, secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de septicemia, daño por isquemia y/o reperfusión, lesión renal aguda, protección de trasplante y función del injerto retrasado, enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y el sistema inmunitario, secuelas de la diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias del sistema nervioso, enfermedades del ojo, enfermedades de la piel, enfermedades del sistema respiratorio, digestivo o genitourinario y secuelas de quemaduras y lesiones.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un método para el tratamiento y/o prevención de trastornos cardiovasculares y cardiopulmonares, choque, trastornos inflamatorios, secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de septicemia, daño por isquemia y/o reperfusión, lesión renal aguda, protección de trasplante y función del injerto retrasado, enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y el sistema inmunitario, secuelas de la diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias del sistema nervioso, enfermedades del ojo, enfermedades de la piel, enfermedades del sistema respiratorio, digestivo o genitourinario y secuelas de quemaduras y lesiones en humanos y animales mediante la administración de una cantidad efectiva de una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprende, que consiste esencialmente en o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal o de una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprende, que consiste esencialmente en o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéu-

ticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en combinación con uno o más excipientes inertes no tóxicos farmacéuticamente aceptables y/o uno o más ingredientes activos adicionales.

A la dosificación adecuada del péptido inhibitorio de MASP de la presente invención la puede decidir el médico que brinda el tratamiento dentro del alcance del criterio médico razonable. El nivel de dosis terapéuticamente efectivo específico para cualquier sujeto particular dependerá de varios factores que incluyen: a) el trastorno que se está tratando y la gravedad del trastorno; b) la actividad del compuesto específico empleado; c) la composición específica empleada, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del paciente; d) la hora de la administración, la vía de administración y tasa de excreción del análogo de hepcidina específico empleado; e) la duración del tratamiento; f) los medicamentos usados en combinación o de forma coincidente con el péptido inhibitorio de MASP empleado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas.

En realizaciones particulares, la dosis diaria total del péptido inhibitorio de MASP de la invención que se administrará a un sujeto o paciente en dosis únicas o divididas puede ser en cantidades, por ejemplo, de 0,0001 a 300 mg/kg del peso corporal diarios o 1 a 300 mg/kg del peso corporal diarios o de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 100 mg/kg del peso corporal por día, tal como de aproximadamente 0,0005 a aproximadamente 50 mg/kg del peso corporal por día, tal como de aproximadamente 0,001 a aproximadamente 10 mg/kg del peso corporal por día, p. ej. de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1 mg/kg del peso corporal por día, administrados en una o más dosis, tal como de una a tres dosis. En general, el péptido inhibitorio de MASP de la invención se puede administrar de manera continua (p. ej. mediante administración intravenosa u otro método de administración continua del medicamento) o se puede administrar a un sujeto en intervalos, en general en intervalos de tiempo regulares, según la dosificación deseada y la composición farmacéutica seleccionada por el experto para el sujeto particular. Los intervalos de

dosificación de administración regulares incluyen, p. ej., una vez al día, dos veces al día, una vez cada dos, tres, cuatro, cinco o seis días, una o dos veces a la semana, una o dos veces al mes y similares.

La invención comprende, además, el uso del péptido inhibitorio de MASP como se describe en la presente para la fabricación de un medicamento, en particular fabricación de un medicamento para la profilaxis y/o tratamiento de un trastorno o enfermedad como se define en la presente.

La invención comprende, además, un proceso para la fabricación de los péptidos de la presente invención, derivado o análogo o la sal farmacéuticamente aceptable o solvato de este o un complejo, cada uno como se describe en la presente. El proceso de fabricación comprende los pasos como se muestra en los ejemplos de la presente invención.

En general, el péptido inhibitorio de MASP de la presente invención se puede fabricar de forma sintética o semirecombinante.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un proceso para preparar un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprende, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de estos al usar una síntesis del péptido en fase sólida.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un proceso para preparar un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, que contiene los pasos

1. El uso de una resina del tipo 2-clorotritil con una carga de 0,2 mmol/g a 1,0 mmol/g o una resina del tipo Wang con una carga de 0,2 mmol/gramos a 1,0 mmol/gramos,
2. La carga del aminoácido C-terminal de la secuencia en la resina,

3. Eliminación de la protección de fmoc con una solución de piperidina al 15% al 25% en DMF o NMP,
4. El acoplamiento del siguiente aminoácido en la secuencia con el acoplamiento de los reactivos tal como HBTU, HATU o DIC/oxima usando estequiometrías entre 3 y 8 equivalentes,
5. La repetición de los pasos 3 y 4 hasta que se complete la secuencia,
6. La escisión del péptido a partir del respaldo sólido usando una mezcla de escisión que implica TFA y un eliminador de tiol,
7. Ciclización de dos cisteínas en la secuencia bajo condiciones oxidativas (aire o I2),
8. Purificación del péptido de escisión usando HPLC de fase inversa.

De acuerdo con una realización adicional, la invención proporciona un proceso para preparar un compuesto que contiene un péptido que se puede aislar y/o purificar, que comprenden, que consiste esencialmente en, o que consiste en, la fórmula (I) o la fórmula (II) o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, que contiene los pasos

1. El uso de una resina del tipo 2-clorotritil con una carga de 0,2 mmol/g a 1,0 mmol/g o una resina del tipo Wang con una carga de 0,2 mmol/gramos a 1,0 mmol/gramos,
2. La carga del aminoácido C-terminal de la secuencia en la resina,
3. Eliminación de la protección de fmoc con una solución de piperidina al 15% al 25% en DMF o NMP,
4. El acoplamiento del siguiente aminoácido en la secuencia con el acoplamiento de los reactivos tal como HBTU, HATU o DIC/oxima usando estequiometrías entre 3 y 8 equivalentes,
5. La repetición de los pasos 3 y 4 hasta que se complete la secuencia,
6. La escisión del péptido a partir del respaldo sólido usando una mezcla de escisión que implica TFA y un eliminador de tiol,
7. Ciclización de dos cisteínas en la secuencia bajo condiciones oxidativas (aire o I2),

8. Purificación del péptido de escisión usando HPLC de fase inversa,
9. Conversión a la sal HCl.

Al menos un péptido, derivado o análogo como se define en la presente o la sal farmacéuticamente aceptable o solvato de este o el complejo como se define en la presente también se pueden usar como un agente bioquímico en un ensayo bioquímico, tal como p. ej. en un ensayo de diagnóstico para medir la capacidad respuesta a los inhibidores de MASP o en cualquier ensayo bioquímico que se base en la unión del inhibidor de MASP.

La presente invención también incluye polinucleótidos que comprenden una secuencia que codifica un péptido inhibitorio de MASP de acuerdo con la presente invención, así como un vector que comprende un polinucleótido que comprende una secuencia que codifica un péptido inhibitorio de MASP de acuerdo con la presente invención.

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que se refieren a realizaciones específicas determinadas de la presente invención. Los ejemplos se llevaron a cabo usando técnicas estándares bien conocidas dentro de la rutina para los expertos en la técnica, a menos que se indique lo contrario. Los siguientes ejemplos solamente tienen fines ilustrativos y no representan ser definitivos a las condiciones o el alcance de la invención. Como tal, no se deben construir de ninguna forma como limitantes del alcance de la presente invención.

Ejemplos

Lista de abreviaturas usadas en la sección experimental:

Å	Angstroms
ac.	Acuosa, solución acuosa
bar	unidad de presión
BPR	regulador de la presión trasera
conc	concentrado
d	doblete (NMR)
dd	doblete de doblete (NMR)

DCM	diclorometano
DEA	dietilamino
DIPEA	N,N,-diisopropiletilamino (base de Hünig)
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	dimetilosulfoxida
dt	doblete de triplete (NMR)
EA	acetato de etilo
ee	exceso de enantiómero
ent	enantiómero
eq	equivalentes
equiv	equivalentes (cromatografía de iones)
ESI	ionización por electroespray (espectrometría de masas)
Fmoc-OSu	1-{[(9H-Fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]oxi}pirrolidina-2,5-diona
GC-MS	cromatografía de gas acoplada con espectrometría de masas
h	horas
HATU	O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio-hexafluorofosfato
HPLC	cromatografía líquida de alta presión
IC	cromatografía de iones
ID	diámetro interno
L	litro
LC-MS	cromatografía líquida acoplada con espectrometría de masas
LiHMDS	bis(trimetilosilil)amida de litio
lit.	literatura
m	multiplete (NMR)
MALDI	desorción/ionización láser asistida por matriz (espectrometría de masas)
Me	metilo
min	minutos

mm	milímetro
□m	micrometro (micron)
M	molar
MPLC	cromatografía líquida de presión media
MS	espectrometría de masas
MTBE	éter metil tert-butilo
MTP	placa de microtritulación
m/z	relación masa a carga (espectrometría de masas)
nm	nanómetro
NMP	N-metil-2-pirrolidona
NMR	espectrocospía de resonancia magnética nuclear
PBS	solución salina tamponada con fosfato
PE	éter de petróleo
PEG	polietilenglicol
pos	positivo
ppm	partes por millón
Pr	propilo
Psi	libras por pulgada cuadrada (presión)
q/quart	cuadruplete (NMR)
qd	cuadruplete de doblete (NMR)
quint	quinteto (NMR)
rac	racémico
Rf	factor de retención (TLC)
RP	fase inversa (para la cromatografía líquida)
Rt	tiempo de retención (cromatografía)
s	singlete (NMR)
s	segundos (tiempo)
SPPS	síntesis del péptido en fase sólida
t	triplete (NMR)
TBTU	O (Benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato

tBu tert-butilo

TEA trietilamina

THF tetrahidrofurano

TLC cromatografía de capa fina

UPLC cromatografía líquida de ultra rendimiento

UV ultravioleta

Se pueden encontrar abreviaturas adicionales en las Tablas 2 y 3.

Métodos analíticos de LC-MS

Método 1

Equipamiento de tipo MS: ThermoFisherScientific LTQ-Orbitrap-XL; Equipamiento de tipo HPLC: Agilent 1200SL; Columna: Agilent, POROSHELL 120, 3 × 150 mm, SB – C18 2,7 µm; eluyente A: 1 L agua + 0,1% de ácido trifluoroacético; eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,1% de ácido trifluoroacético; gradiente: 0,0 min 2% B → 1,5 min 2% B → 15,5 min 98% B → 18,0 min 98% B; horno: 40 °C; tasa de flujo: 0,75 mL/min; detección de UV: 210 nm

Método 2

Equipamiento de tipo MS: ThermoFisherScientific LTQ-Orbitrap-XL; Equipamiento de tipo HPLC: Agilent 1200SL; Columna: Agilent, POROSHELL 120; 3 × 150 mm, SB – C18 2,7 µm; eluyente A: 1 L agua + 0,1% de ácido trifluoroacético; eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,1% de ácido trifluoroacético; gradiente: 0,0 min 5% B → 0,3 min 5% B → 7,0 min 98% B → 10 min 98% B; horno: 40 °C; tasa de flujo: 0,75 mL/min; detección de UV: 210 nm

Método 3

Equipamiento de tipo MS: Instrumento Waters TOF; Equipamiento de tipo UPLC: Waters Acquity I-CLASS; Columna: YMC, TRIART C18, 75 × 1 mm, 3,0 µm × 12 nm; eluyente A: 1 L agua + 0,01% de ácido fórmico; eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,01% de ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 1% B → 2,0 min 1% B →8,0 min 95% B → 10,0 min 95% B; horno: 50 °C; tasa de flujo: 0,63 mL/min; detección de UV: 210 nm

Método 4

Equipamiento de tipo MS: Instrumento Waters TOF; Equipamiento de tipo UPLC: Waters Acquity I-CLASS; Columna: YMC, TRIART C18, 75 × 1 mm, 3,0 µm 12 nm; eluyente A: 1 L agua + 0,01% de ácido fórmico; eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,01% de ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 1% B → 1,0 min 1% B →15,0 min 50% B → 18,0 min 95% B; horno: 50 °C; tasa de flujo: 0,63 mL/min; detección de UV: 210 nm

Método 5

Equipamiento de tipo MS: Instrumento Waters TOF; Equipamiento de tipo UPLC: Waters Acquity I-CLASS; Columna: Waters, HSST3, 2,1 × 50 mm, C18 1,8 µm; eluyente A: 1 L agua + 0,01% de ácido fórmico; eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,01% de ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 2% B → 0,5 min 2% B → 7,5 min 95% B → 10,0 min 95% B; horno: 50 °C; tasa de flujo: 1,00 mL/min; detección de UV: 210 nm

Método 6

Equipamiento de tipo MS: Waters Synapt G2S; Equipamiento de tipo UPLC: Waters Acquity I-CLASS; Columna: Waters, BEH300, 2,1 × 150 mm, C18 1,7 µm; eluyente A: 1 L agua + 0,01% de ácido fórmico; eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,01% de ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 2% B → 1,5 min 2% B → 8,5 min 95% B → 10,0 min 95% B; horno: 50 °C; tasa de flujo: 0,50 mL/min; detección de UV: 220 nm

Método 7

Instrumento de tipo MS: Agilent 6410 Triple Quad; Instrumento de tipo HPLC: Agilent 1200; Columna: Gemini-NX C18 5 □m 110Å 150 × 4,6 mm; eluyente A: 0,1%TFA en H_2O; eluyente B: 0,1%TFA en ACN; gradiente: 0,0 min 20% B → 20 min 50% B → 20,1 min 90% B → 23 min 90% B; temperatura del horno: 50 °C; tasa de flujo: 1,0 mL/min; detección de UV: 220 nm

Método 8

Instrumento de tipo MS: Agilent 6410 Triple Quad; Instrumento de tipo HPLC: Agilent 1200; Columna: Discovery BIO Wide Pore C18 5□m 300Å × 4,6 mm;

eluyente A: 0,1%TFA en H_2O; eluyente B: 0,1%TFA en ACN; gradiente: 0,0 min 10% B → 20 min 80% B → 20,1 min 90% B → 23 min 90% B; temperatura del horno: 50 °C; tasa de flujo: 1,0 mL/min; detección de UV: 220 nm

Método 9

Instrumento: Sistema Waters ACQUITY SQD UPLC; columna: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 µm 50 × 1 mm; eluyente A: 1 L agua + 0,25 mL 99% ácido fórmico, eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,25 mL 99% ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 90% A → 1,2 min 5% A → 2,0 min 5% A; horno: 50 °C; flujo: 0,40 mL/min; detección de UV: 210 nm

Método 10

Instrumento MS: Thermo Scientific FT-MS; Instrumento UHPLC: Thermo Scientific UltiMate 3000; Columna: Waters, HSST3, 2,1 × 75 mm, C18 1,8 µm; eluyente A: 1 L agua método 10er + 0,01% ácido fórmico; eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,01% de ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 10% B → 2,5 min 95% B → 3,5 min 95% B; horno: 50 °C; tasa de flujo: 0,90 mL/min; detección de UV: 210 nm/Optimum Integration Path 210-300 nm

Método 11

Instrumento de MS: Agilent MS Quad 6150; HPLC: Agilent 1290; Columna: Waters Acquity UPLC HSS T3 1,8 µm 50 × 2,1 mm; eluyente A: 1 L agua + 0,25 mL ácido fórmico, eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,25 mL ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 90% A → 0,3 min 90% A → 1,7 min 5% A → 3,0 min 5% A horno: 50 °C; tasa de flujo: 1,20 mL/min; detección de UV: 205 nm – 305 nm.

Método 12

Instrumento: Sistema Waters ACQUITY SQD UPLC; columna: Waters Acquity UPLC HSST3 1,8 µm 50 × 1 mm; eluyente A: 1 L agua + 0,25 mL 99% ácido fórmico, eluyente B: 1 L acetonitrilo + 0,25 mL 99% ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 95% A → 6,0 min 5% A → 7,5 min 5% A horno: 50 °C; tasa de flujo: 0,35 mL/min; detección de UV: 210 nm.

Método 13

Instrumento: Waters Single Quad MS System; Instrumento Waters UPLC Acquity; columna: Waters BEH C18 1,7 µm 50 × 2,1 mm; eluyente A: 1 L agua + 1,0 mL (25% amonio)/L, eluyente B: 1 L acetonitrilo; gradiente: 0,0 min 92% A → 0,1 min 92% A → 1,8 min 5% A → 3,5 min 5% A; horno: 50 °C; tasa de flujo: 0,45 mL/min; detección de UV: 210 nm.

Método 14

Sistema MS: Instrumento Waters TOF; Sistema UPLC: Waters Acquity I-CLASS; Columna: Waters Acquity UPLC péptido BEH C18 300Å, 1,7 µm 150 × 2,1 mm; eluyente A: 1 L agua + 0,100 mL 99% ácido fórmico, eluyente B: 1 L Acetonitrilo + 0,100 mL 99% ácido fórmico; Gradiente: 0,0 min 90% A →0,25 min 90% A → 8,0 min 45% A → 10,0 min 2% → 12,0 min 2% A horno: 50 °C; Flujo: 0,475 mL/min; detección de UV: 210 nm.

Método 15

MS Instrumento de tipo: Agilent G6110A; HPLC Instrumento de tipo: Agilent 1200 Series LC; UV DAD; columna: Chromolith Flash RP-18e 25 × 2,0 mm; fase móvil A: 0,0375% TFA en agua (v/v), fase móvil B: 0,01875% TFA en acetonitrilo (V/V); gradiente: 0,01 min 5% B → 0,80 min 95% B → 1,20 min 95% B → 1,21 min 5% B → 1,5 min 5% B; tasa de flujo: 1,50 mL/min; temperatura del horno: 50 °C; detección de UV: 220 nm y 254 nm.

Método MALDI

Se realizaron las mediciones exactas de la masa en péptidos seleccionados usando un métodos de espectrometría de masas de desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI) en un sistema MS tiempo de vuelo (ToF-MS) Bruker autoflex maX LRF MALDI. Se prepararon las muestras en una placa diana de Bruker MALDI usando ácido □-ciano-4-hidroxicinámico (CAS 28166-41-8) como la matriz. Se preparan una solución del péptido de muestra 0,1 a 1,0 mg en 1,0 mL de acetonitrilo-agua (50/50 o 30/70) y una solución de reserva de la matriz (10 mg/mL) en 50% acetonitrilo en agua que contiene 0,05% de ácido trifluoroacético. Se coloca 1,0 uL de cada solución en la placa diana de

MALDI y se deja que se seque. Luego, la muestra está lista para el análisis. Se pueden encontrar las preparaciones de muestras recomendadas para las placas diana de MALDI en la documentación proporcionada por Bruker.

Método analítico de cromatografía de iones

Método: IC: Cuantitativo

Medición cuantitativa de cationes y aniones usando estándares externos; Instrumento: Thermo Scientific ICS 5000+; Capillary IC Columnas: IonPac AS11-HC und IonPac CS16; eluyente: eluyente de gradiente [H]+ [OH]-; Detector: Detección de la conductividad; posibles aniones de rutina: acetato, bromuro, citrato, cloruro, fluoruro, formato, lactato, mesilato, fosfato, sulfato, tartrato, trifluoroacetato; posibles cationes de rutina: amonio, bario, calcio, potasio, litio, sodio, magnesio, colina.

Método analítico de espectrometría de masas de cromatografía de gas

Método GC-MS 1

Instrumento: Thermo Scientific DSQII, Thermo Scientific Trace GC Ultra; columna: Restek RTX-35MS, 15 m × 200 µm × 0,33 µm; flujo constante con el lío: 1,20 mL/min; horno: 60 °C; entrada: 220 °C; gradiente: 60 °C, 30 °C/min → 300 °C (3,33 min de retención).

NMR

Los datos de RMN de ^{1}H de los compuestos seleccionados se enumeran en forma de listas de picos de RMN ^{1}H. En la presente, se proporciona el valor δ para cada pico de señal ppm, seguido de la intensidad de la señal, informado entre paréntesis. Los pares de la intensidad de la señal/valor δ a partir de los diferentes picos se separan mediante comas. Por lo tanto, una lista de picos se describe para la forma general: δ1 (intensidad1), δ2 (intensidad2),... , δi (intensidadi),... , δn (intensidadn).

La intensidad de una señal aguda se correlaciona con la altura (en cm) de la señal en un espectro de NMR. Cuando se compara con otras señales, estos datos se pueden correlacionar con las proporciones reales de las intensidades de la señal. En el caso de las señales amplias, se muestra más de un pico o el

centro de la señal junto con su intensidad relativa, en comparación con la señal más intensa mostrada en el espectro. Una lista de picos de RMN de ^{1}H es similar a una lectura clásica de RMN de ^{1}H y, por lo tanto, en general, contiene todos los picos enumerados en una interpretación clásica de RMN. Además, similares a las lecturas de RMN de 1H, las listas de picos pueden mostrar señales de solventes, señales derivadas de estereoisómeros del compuesto diana particular, picos de impurezas, picos del satélite 13C y/o bandas laterales giratorias. Los picos de los estereoisómeros y/o picos de las impurezas en general se muestran con una intensidad más baja en comparación con los picos del compuesto diana (p. ej., con una pureza del >90%). Dichos estereoisómeros y/o impurezas pueden ser típicas para el proceso de fabricación particular y, por lo tanto, sus picos pueden ayudar a identificar una reproducción del proceso de fabricación basándose en “las huellas digitales del producto secundario”. Un especialista que calcula los picos del compuesto diana por medio de procedimientos conocidos (MestReC, simulación ACD o mediante el uso de valores esperados evaluados de manera empírica) puede aislar los picos del compuesto diana según necesidad, opcionalmente usando filtros de intensidad adicionales. Dicha operación sería similar a la elección de picos en la interpretación clásica del RMN de 1H. Se puede encontrar una descripción detallada del informe de los datos del RMN en la forma de listas de picos en la publicación “Citation of NMR Peaklist Data within Patent Applications” (cf. http://www.researchdisclosure.com/searching-disclosures, Research Disclosure Database Number 605005, 2014, 01 de agosto de 2014). En la rutina de elección de picos, según se describe en la base de datos de divulgación de la investigación número 605005, el parámetro “MinimumHeight” se puede ajustar entre 1% y 4%. Sin embargo, dependiendo de la estructura química y/o dependiendo de la concentración del compuesto medido, puede ser razonable configurar el parámetro “MinimumHeight” <1%.

Ejemplos de preparación

Método generales para la síntesis

Se llevó a cabo la síntesis del péptido en fase sólida (SPPS) usando un sintetizador automático de péptido o se realizó manualmente. La síntesis del péptido en general se llevó a cabo en rangos de escala de 0,1 mmol a 1,0 mmol. Cuando se llevó a cabo la síntesis de péptido a mano, se usaron los métodos C, D y E de los procedimientos generales descritos a continuación. Se realizó la síntesis automatizada del péptido en un sintetizador de péptidos Symphony X (Gyros Protein Technologies).

Los aminoácidos protegidos por Fmoc (o aminoácidos intermedios usados para preparar aminoácidos Fmoc) se adquirieron de Novabiochem, Bachem, Iris Biotech, Sigma-Aldrich, Alfa, Enamine, Amatek, Anichem, ACBR, ABC Laboratory, AP Bioscience, Combiblocks, ArZa Bioscience, Ark Pharm, Acroteinchem, Apollo Scientific, Biofine, Broadpharm, VWR o Gyros Protein Technologies (Fluorenilmetoxicarbonil = Fmoc), GL Biochem (Shanghai) Ltd, Chengdu Aminotp Pharmaceutical Technology Ltd, Suzhou Highfine Biotech Co., Ltd, WuXi AppTec o se obtuvieron de otros proveedores chinos. Algunos aminoácidos protegidos por Fmoc especiales se sintetizaron internamente y estos métodos sintéticos se describen en la presente. Algunos de los aminoácidos de fmoc sintetizados internamente también están disponibles comercialmente. En algunos casos en donde el aminoácido protegido por Fmoc no estaba disponible comercialmente, pero el aminoácido no natural protegido por Boc (*tert*-butiloxicarbonil = Boc) estaba disponible comercialmente, se preparó el aminoácido protegido por Fmoc a partir del aminoácido protegido por Boc mediante la desprotección y reprotección usando métodos empleados frecuentemente en la técnica. Los números de CAS para los aminoácidos no naturales comercialmente disponibles usados en la síntesis de los péptidos de esta invención se han incluido en la mayoría de los casos en la Tabla 5. En los casos en donde se adquirió un aminoácido racémico (Fmoc o Boc), un experto en la técnica debe reconocer que los enantiómeros se pueden separar usando cromatografía

quiral y, de hecho, esto se realizó a veces para obtener el aminoácido puro de forma enantiomérica antes de la síntesis del péptido.

Se han usado los siguientes aminoácidos no naturales en la preparación de los péptidos de la invención. Los aminoácidos protegidos por Fmoc o Boc se obtuvieron a través de fuentes comerciales (está disponible el número de CAS) o se sintetizaron internamente mediante métodos descritos en la presente. La Tabla 5 muestra el número de CAS de los grupos químicos/aminoácidos que se usaron para la síntesis del péptido (columna derecha) y el grupo químico/aminoácido correspondiente presente en los péptidos (columna izquierda).

Tabla 5: Disponibilidad de aminoácidos no naturales y grupos químicos de esta invención

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
Ácido ciclohexanocarboxílico	98-89-5
Ácido (2S)-Amino-2-[3-(Trifluorometil)biciclo[1,1,1]pent-1-il]acético	914082-67-0
(S)-3-(2H-tetrazol-5-il)ácido propanoico	954147-35-4
Ácido (1R,3S)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico	220497-67-6
(1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-ácido carboxílico	291775-59-2
Ácido (1R,3S,5R)-2-Azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico	1932624-93-5
ácido (1S,2S,4S)-Biciclo[2.2.1]hept-5-en-2-ilacético	14734-13-5
Ácido (1S,2S,5R)-3-	400720-05-0 (Boc); 854113-43-2

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico	
Ácido (1S,3R)-3-(Amino)ciclopentancarboxílico	220497-66-5
Ácido (1S,3R,4R)-2-Azabiciclo[2.2.1]heptano-3-carboxílico	291775-53-6; 291775-53-6 (Boc)
(2,4-Dioxoimidazolidin-1-il)ácido acético	94738-31-5; 94738-31-5 (NH)
2-Ciano-L-fenilalanina	401933-16-2
2-Fluoro-L-fenilalanina	205526-26-7
2-Metil-L-fenilalanina	211637-75-1
(2S)-(tetrahidro-2H-piran-4-il)ácido etanoico	368866-31-3
(2S,4S)-4-Trifluorometil-pirrolidina-2-ácido carboxílico	1242934-32-2
(3,3-difluorociclobutil)ácido acético	1373503-48-0
3-Ciano-L-fenilalanina	205526-36-9
3-Fluoro-L-fenilalanina	8560-68-8
4-Fluoro-L-fenilalanina	169243-86-1
5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico	150543-61-6
D-(+)Biotina	58-85-5
L-N,N-Dimetilalanina	2812-31-9
N,N-Dimetilglicina	1118-68-9
2-(N-Isopropil-N-metilamino)ácido acético	4747-21-1

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
L-N-Metilalanina	84000-07-7
D-N-Metilalanina	138774-92-2
L-N-metilcisteína	944797-51-7
L-N-metilfenilalanina	77128-73-5
N-metil-glicina	77128-70-2
L-N-metilisoleucina	138775-22-1
N-fenilglicina	103-01-5
Ácido (R)-3-Aminoadípico	197006-18-1
Ácido (R)-4-Amino-6-metilheptanoico	269078-75-3
Ácido (R)-Piperidin-3-carboxílico	193693-67-3; 163438-09-3 (Boc)
Ácido (R)-Pirrolidin-3-carboxílico	68464-02-8
Ácido (S)-(1-Piperidin-3-il)-acético	1217646-18-8
Ácido (S)-2-Amino-3-etil-pentanoico	1310680-47-7
Ácido (S)-3-(1-Pirrolidin-2-il)-propionico	1013997-51-7
(S)-3-(2H-Tetrazol-5-il)ácido propiónico	954147-35-4
ácido (S)-3-metilvalérico	1730-92-3
Ácido (S)-4-Piperazin-2-carboxílico	1217628-46-0
Ácido (S)-Piperidin-3-carboxílico	193693-68-4
(S)-pirrolidina-3-ácido carboxílico	193693-66-2; 140148-70-5 (Boc)
Ácido [(2R)-4,4-Difluoropirrolidin-2-il]acético	1402687-79-9
[(6S)-5-Azaspiro[2.4]hept-6-il]ácido acético	Omegachem (OC-0701)
1,1-Dioxidotetrahidro-2H-tiopiran-4-	1224869-02-6

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
il)ácido acético	
L-1-Naftilalanina	96402-49-2
2-(3-Piridil)ácido acético	501-81-5
Ácido 2-(Aminometil)benzoico	219640-94-5
Ácido 2-(Ciclohexilamino)acético	108-91-8
2-(Dietilamino)ácido acético	109-89-7
2-(Morfolino)ácido acético	110-91-8
2-(N-metil-N-ciclopropilamino)ácido acético	5163-20-2
2-(Piperidin)ácido acético	110-89-4
2-(pirrolidina)ácido acético	123-75-1
2-(Thian-4-il)ácido acético	137103-09-4
2-(Thiomorfolino)ácido acético	123-90-0
2,3-Difluoro-L-fenilalanina	1260605-30-8
ácido 2-Aminobenzoico	150256-42-1
2-Azaspiro[3.3]heptano-6-ácido carboxílico	2138525-84-3
L-2-Bromofenilalanina	220497-47-2
2-cloro-L-fenilalanina	198560-41-7
ácido 2-Cianobenzoico	3839-22-3
ácido 2-Fluorobenzoico	445-29-4
ácido 2-hidroxiacético	7732-18-5
ácido 2-hidroxiisobutírico	594-61-6
ácido 2-metilbenzoico	118-90-1

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
2-Metil-L-fenilalanina	211637-75-1
L-2-Naftilalanina	112883-43-9
L-2-Piridilalanina	185379-40-2
ácido (2S)-Pirrolidina-2-ilacético	19693-60-6
ácido 3-(2-Oxoimidazolidin-1-il)benzoico	884504-86-3
ácido 3-(3-Oxo-1,3,4,5,6,7-hexahidro-2H-indazol-2-il)benzoico	885949-86-0
Ácido 3-(Aminometil)benzoico	117445-22-4
ácido 3-(Isobutirilamino)benzoico	28533-44-0
3-(Trifluorometil)biciclo[1,1,1]pent-1-il]ácido acético	914082-67-0
ácido 3-[(E)-(2-carboxiciclohexen-1-il)azo]benzoico	885949-86-0
ácido 3-Acetamidobenzoico	587-48-4
Ácido 3-Amino-2,2-dimetilpropionico	1076197-00-6
Ácido 3-Amino-3-metilbutírico	244031-65-0; 129765-95-3 (Boc)
ácido 3-Aminobenzoico	185116-42-1
Ácido 3-Aminometilfenilacético	631915-50-9
L-3-Bromofenilalanina	220497-48-3
ácido 3-Carboxibenzoico	121-91-5
3-Cloro-L-Fenilalanina	198560-44-0
3-clorofenilglicina	10242-05-4
ácido 3-Cianobenzoico	1877-72-1
ácido 3-Fluorobenzoico	455-38-9

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
3-Metil-L-fenilalanina	211637-74-0
ácido 3-Metoxipropiónico	2544-06-1
ácido 3-metilbenzoico	99-04-7
L-3-Piridilalanina	175453-07-3
Ácido 4-(Aminometil)benzoico	33233-67-9
ácido 4-Aminobenzoico	185116-43-2
Ácido 4-Aminometilfenilacético	176504-01-1; 71420-92-3 (Boc)
L-4-Aminofenilalanina	95753-56-3
L-4-Bromofenilalanina	198561-04-5
ácido 4-Carboxibenzoico	100-21-0
ácido 4-Cianobenzoico	619-65-8
ácido 4-Fluorobenzoico	456-22-4
4-Fluoro-L-leucina	1643928-01-1
4-metil-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazina-8-ácido carboxílico	141762-02-9
ácido 4-metilbenzoico	99-94-5
ácido 4-metilpentanoico	646-07-1
L-4-Piridilalanina	169555-95-7
ácido 4-Piperidinepropanoico	154938-68-8
4-Tetrahidropiranoil	368866-31-3
5-clorotiofeno-2-ácido carboxílico	24065-33-6
8-aminocubano-1-ácido carboxílico	Enamino EN300-88072 (MFCD09971721)
ácido (S)-2-(Amino)-1,6-hexanodioico	159751-47-0

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
ácido L-2-Aminobutírico	135112-27-5
1-Aminociclobutano-1-ácido carboxílico	885951-77-9
ácido Aminociclobutanocarboxílico	885951-77-9
Ácido 1-(Aminometil)-ciclopropil-1-carboxílico	1263045-62-0
ácido (1S,2S)-2-Amino-1-ciclopentanocarboxílico	359586-64-4
ácido (1R,2R)-2-Amino-1-ciclopentanocarboxílico	359586-69-9
ácido rel-(1R,2S)-2-Amino-1-ciclopentanocarboxílico	352707-76-7
ácido Adípico	124-04-9
ácido 6-Aminohexanoico	88574-06-5
Ácido 2-aminoisobutírico	94744-50-0
L-tert-butilalanina	139551-74-9
allo-L-Isoleucina	251316-98-0
allo-L-Treonina	201481-37-0
2-metil-L-prolina	167275-47-0
N(5)-metil-L-arginina	1135616-49-7
(S)-Azetidina-2-ácido carboxílico	136552-06-2; 51077-14-6 (Boc)
ácido Benzoico	65-85-0
L-2-Tienilalanina	130309-35-2
beta-Alanina	35737-10-1
Bromoacetil	79-08-3

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
4-(3,5-Dimetil-1,2-oxazol-4-il)-L-fenilalanina	1381790-25-5
Ácido (2S)-2-amino-3-(4-tert-butilfenil)propanoico	143415-62-7
Ácido (2S)-2-Amino-5-metil-hexanoico	180414-94-2
ácido (2S)-2-Amino-4,4,4-trifluorobutanoico	181128-48-3
Ácido (2S)-3-(4-carboxifenil)-2-aminopropanoico	183070-44-2
(2S)-2-amino-3-(4-carbamoilfenil)ácido propanoico	205126-71-2
(2S)-2-Amino-3-(2,3,4,5,6-(pentafluorofenil)ácido propanoico	205526-32-5
Ácido (2S)-3-(3-Cianofenil)-2-aminopropanoico	205526-36-9
3-Azido-L-Alanina	684270-46-0
Ácido 2-Amino-5,5,5-trifluoro-4-metil-pentanoico	777946-04-0
Ácido (1R,2S,5S)-3-azabiciclo[3.1.0]hexan-2-carboxílico	167611-99-6 (Boc); 1219181-14-2 (rac)
L-ciclobutilalanina	478183-62-9
ácido (S)-2-Amino-2-ciclobutilacético	1391630-31-1
L-Ciclohexilalanina	135673-97-1
D-ciclohexilalanina	144701-25-7

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
L-Ciclohexilglicina	161321-36-4
L-4,4-Difluoroprolina	
(2S,4S)-4-Fluoroprolina	203866-19-7
L-Citrulina	133174-15-9
Ácido L-2-Amino-4-cianobutírico	913253-24-4
3,3-dimetil-1,3-azasilolidina-5-ácido carboxílico	268224-29-9 (Boc)
(S)-(trifluorometil)-L-cisteína	1994331-25-7
Ácido (2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico	2350203-57-3
Ácido (2S)-3-(indol-4-il)-2-(amino)propanoico	220499-20-7
Ácido (2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico	266360-64-9
L-Ciclopentilalanina	371770-32-0
L-ciclopentilglicina	220497-61-0
ácido ciclobutanocarboxílico	3721-95-7
2-(ciclobutil)ácido acético	6540-33-6
L-ciclobutilglicina	49607-08-1
ácido ciclohexilacético	5292-21-7
ácido ciclopentanocarboxílico	3400-45-1
ácido ciclopentilacético	1123-00-8
ácido ciclopropanocarboxílico	1759-53-1
ácido ciclopropilacético	5239-82-7

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
D-2-Clorofenilalanina	205526-22-3
ácido L-2,4-Diaminobutírico	125238-99-5; 607366-21-2 (ivDde); 851392-68-2 (MTT)
ácido L-2,3-Diaminopropiónico	162558-25-0; 607366-20-1 (ivDde); 654670-89-0 (MTT)
D-beta-Prolina	193693-61-7
D-Hidroxiprolina	464193-92-8
Ácido (2S)-2-Amino-4-(benzilamino)-4-oxobutancarboxílico	100-46-9
Ácido (2S)-2-[(3R)-3-Amino-2-oxopirrolidin-1-il]-4-metilpentanoico	957507-85-6
ácido Fumárico	110-17-8
ácido Gamma-Aminobutírico	116821-47-7; 57294-38-9 (Boc)
L-tert-butilglicina	132684-60-7
1-Benzil-L-histidina	84030-19-3
1-metil-L-histidina	202920-22-7
L-3-metilhistidina	84030-19-3
L-Homocisteína	167015-23-8
ácido L-Dihidroorótico	5988-19-2
ácido 3-fenilpropanoico	501-52-0
L-hidroxiprolina	122996-47-8
Ácido iminodiacético	142-73-4
ácido Isobutírico	79-31-2
ácido Isonipecótico	148928-15-8

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
ácido Isovalérico	503-74-2
N-e-Isopropil-L-lisina	201003-48-7
3-Etil-L-Norvalina	1310680-47-7
L-(+)-ácido Láctico	79-33-4
3-(1,3-Benzotiazol-2-il)-L-alanina	959583-56-3
(S)-pirrolidina-2-ácido carboxílico	193693-60-6
L-Propargilglicina	1435854-95-7
(3S)-morfolino-3-ácido carboxílico	281655-37-6
ácido Nicotínico	59-67-6
L-Norleucina	77284-32-3
N-metil-L-prolina	475-11-6
L-Norvalina	135112-28-6
ácido 1,18-Octadecanedioico	871-70-5
2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico	130309-37-4
L-Ornitina	109425-55-0; 269062-80-8 (DDE); 1198321-33-3 (ivDDE); 147290-11-7 (Alloc)
ácido Palmítico	57-10-3
Ácido 9-Amino-4,7-dioxanonanoico	872679-70-4
Ácido 12-Amino-4,7,10-trioxadodecanoico	867062-95-1
Ácido 15-Amino-4,7,10,13-tetraoxa(Pen)tadecanoico	557756-85-1

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
Ácido 18-Amino-4,7,10,13,16-(Pen)taoxaoctadecanoico	882847-32-7
Ácido 14-Amino-3,6,9,12-tetraoxatetradecanoico	437655-95-3
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18-hexaoxahenicosan-21-oico	882847-34-9
Ácido 17-Amino-3,6,9,12,15-(Pen)taoxaheptadecanoico	635287-26-2
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21-heptaoxatetracosan-24-oico	1863885-74-8
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21,24-octaoxaheptacosan-27-oico	756526-02-0
Ácido 1-Amino-3,6,9,12,15,18,21,24,27-nonaoxatriacontan-30-oico	1191064-81-9
L-Penicilamina	201531-88-6
Ácido fenilacético	103-82-2
L-fenilglicina	102410-65-1
ácido Picolínico	98-98-6
ácido L-Pipecólico	86069-86-5
ácido Piperidina-4-ilacético	157688-46-5 (Boc); 180181-05-9
ácido Piválico	75-98-9
L-trans-3-hidroxiprolina	4298-08-2
ácido L-Piroglutámico	53100-44-0
Ácido S-2-amino-3-etil-pentanoico	1310680-47-7

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
Ácido S-3-1-Pirrolidin-2-il-propiónico	MFCD09952617
ácido Subérico	505-48-6
ácido tert-butilacético	1070-83-3
Tetrahidropiranil-4-ácido acético	85064-61-5
ácido Trifluoroacético	76-05-1
L-2-Tienilalanina	130309-35-2
Ácido (2S,3S)-2-[(3R)-3-Amino-2-oxopirrolidin-1-il]-3-metilpentanoico	301840-23-3
ácido (2S,3S)-2-[2-Oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico	-
Ácido (2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazin-1-il]-3-metilpentanoico	-
Ácido (1R,3S,5R)-2-Azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico	1932624-93-5
3-(Trimetilsilil)-L-alanina	359766-59-9
Ácido (6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico	2170726-27-7
Ácido rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(Trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-carboxílico	1986905-54-7
Ácido (4aR,6aR,9S,11aS)-11-oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrolo[1,2-a]azepin-9-carboxílico	1637768-88-7

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
Ácido (2S)-2[(amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)]acético	368866-31-3
Ácido (2S,3S)-2-((Amino)meti)-3-metilpentanoico	671233-52-6
Ácido 2-[(1S,2S)-1-(amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-carboxílico	1238864-23-7
Ácido (2S)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético	-
Ácido (2R)-Amino-(1-metil-1H-indazol-5-il)acético	-
3-Carboxifenilalanina	-
2-Metil-D-aloisoleucina	118904-37-3
4-Etil-L-norleucina	1998613-43-6
L-2,6-Difluorofenilalanina	1235005-44-3
2,5-Difluoro-L-fenilalanina	1004959-90-3
Ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrol-2-carboxílico	87269-87-2
Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]acético	-
Ácido (2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3S)-3-hidroxiciclohexil]acético	-
Ácido 2-Amino-7-(*tert*-butoxi)-7-oxoheptanoico	159751-46-9

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
Ácido (2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico	-
ácido Tetrahidro-2H-piran-3-ilacético	1395922-27-6
Ácido rel-(1R,3S)-3-[(Amino)metil]ciclohexanecarboxílico	2138238-33-0
Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1)	-
Ácido (3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2)	-
ácido Tranexámico	167690-53-1; 27687-14-5 (Boc)
Ácido *trans*-2-(3-(Amino)ciclohexil)acético	347185-01-7
trans-4-Fluoroprolina	203866-20-0
Ácido 1,13-Diamino-4,7,10-trioxatridecan-succinámico	172089-14-4
4-Piperazina-2-ácido carboxílico	1034574-30-5
(2-pirrolidina-1-il) ácido acético	37386-15-5
Ácido (S)-2-(Amino)-1,6-hexanedioico (AAD)	159751-47-0
Freidinger's Lactam	145484-45-3
(R)-pirrolidina-3-ácido acético	2137100-59-3
Ácido propiónico (2S)-2-(Morfolina-4-il)	110582-65-5

Abreviatura/Definición de la expresión	**Número de CAS para el aminoácido protegido por Fmoc/Boc, grupo químico o componente básico usado para la síntesis del péptido**
L-dehidroprolina	135837-63-7
Ácido (3S)-2-azaspiro[4.4]nonano-3-carboxílico	394734-78-2
(2R)-2-amino-3-(trifluorometilsulfanil)ácido propanoico	1994331-25-7
Arg(13C6,15N4)	1217461-89-6

Se adquirieron las resinas en fase sólida de Novabiochem, Bachem, Iris Biotech, Pcas Biomatrix, GL Biochem (Shanghai) Ltd, CEM o Protein Technologies. La carga de resina fue de 0,3 mmol/g a 1,0 mmol/g. Se sintetizaron los péptidos en la resina 2-clorotritil, en la resina Wang o en las resinas Rink del tipo amida según el C-terminal deseado. La escisión del grupo protector de fluorenilmetoxicarbonil (Fmoc) se logró usando 20% de piperidina en dimetilformamida a temperatura ambiente. Cada grupo de escisión de Fmoc se llevó a cabo dos veces. Los aminoácidos se acoplaron en un sintetizador automatizado (Symphony X) usando 8 equivalentes del aminoácido Fmoc, con 8 equivalentes de DIC (Diispropilcarbodiimida) (0,5 M en DMF) y 8 equivalentes de oxima (etil cianohidroxiiminoacetato) (0,5 M en DMF). Los acoplamientos de aminoácido se llevaron a cabo a temperatura ambiente y en una atmósfera de nitrógeno, cuando se usó Symphony X. Cuando se usaron aminoácidos fmoc costosos o autopreparados, el acoplamiento se realizó manualmente usando 3 equivalentes del aminoácido Fmoc, con 3 equivalentes de DIC (0,5 M en DMF) y 3 equivalentes de oxima (0,5 M en DMF). Cada paso de acoplamiento de aminoácido se llevó a cabo dos veces (doble acoplamiento). De manera alternativa, se prepararon los péptidos por SPPS de forma manual usando 3 equi-

valentes del aminoácido Fmoc, 2,85 equivalentes de HBTU ((2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio hexafluorofosfato, **H**exafluorofosfato **B**enzotriazol **T**etrametil **U**ronio) (0,5 M en DMF) y 6 equivalentes de DIPEA (0,5 M en DMF). Se monitoreó la reacción de acoplamiento usando la prueba de ninhidrina.

Los péptidos estaban completamente desprotegidos usando ácido trifluoroacético (TFA)/tioanisol (TA)/1,2-etanoditiol (EDT) (90:7:3) o con 92,5%TFA/2,5%EDT/2,5%TIS (triisopropilsilano)/2,5%H_2O. Para los péptidos que contienen metionina, los péptidos se trataron con una solución de 1,6% EDT y 1,2% trimetilsililbromuro en TFA durante 2 horas a temperatura ambiente para reducir la metionina oxidada.

Ciclización de disulfuro:

La conexión de disulfuros se formaron al agitar los péptidos en 0,1 M de tampón de bicarbonato de amonio (pH 7,83) en una concentración de 0,5 mg/mL durante la noche. Luego, la solución se liofilizó. De manera alternativa, se formó la conexión de disulfuros al agitar los péptidos en una mezcla de acetonitrilo/agua (a menudo 3:7) ajustada al pH 9,0 con tampón de bicarbonato de amonio sólido en una concentración de 1 mg/mL a 3 mg/mL durante la noche. De manera alternativa, se preparó la conexión de disulfuros mediante la oxidación con yoduro (I_2) (0,1 M en MeOH) en una concentración de 1 mg/mL a 1,3 mg/mL en acetonitrilo/agua (1:1) a 20 °C durante 2 minutos, seguido del tratamiento con tiosulfato de sodio (0,1 M en agua) seguido de liofilización.

Acetilación opcional:

Se realizó la acetilación de N-terminal usando 10 equivalentes de anhídrido acético en DMF (2 mL) y 2,5 equivalentes DIPEA al agitar la suspensión a RT durante 1 h en un agitador orbital. Se eliminó el solvente y se lavó la resina con DMF (5x) y DCM (5x). Luego se repitió nuevamente el procedimiento. De manera alternativa, se realizó la acetilación de N-terminal usando 10 mL de una solución de encapsulación que consiste en anhídrido acético/N-metil morfolino

(NMM)/DMF (10:5:85) al agitar la suspensión RT durante 30 min en un agitador orbital.

Escisión del péptido:

Se prepara una mezcla de escisión que contiene TFA/EDT/tioanisol (90:3:7). Se agregó la mezcla de escisión (2 mL) al péptido que contiene resina y se agitó la suspensión en un agitador orbital durante 2,5 horas. Se agregó éter frío (-20 °C) al péptido precipitado. Se centrifugó la solución resultante bajo nitrógeno (Sigma 2-16KL) y el sólido resultante obtenido después de la decantación se lavó con éter frío 3 veces más, mediante centrifugación y decantación. El sólido resultante se purificó mediante la HPLC preparativa.

De manera alternativa, se preparó una mezcla de escisión que contiene TFA/EDT/TIS/H_2O (92,5:2,5:2,5:2,5). Se agregó la mezcla de escisión (6 mL (escala de 0,3 mmol)) al péptido que contiene resina y se agitó la suspensión en un agitador orbital durante 2,5 horas. Se agregó éter metil tert-butílico frío (-20 °C) al péptido precipitado. Se centrifugó la solución resultante a 3000 rpm durante 3 min y el sólido resultante obtenido después de la decantación se lavó con éter metil tert-butílico 3 veces más (20 mL × 3), mediante centrifugación y decantación. El péptido crudo resultante se secó al vacío durante 2 horas y luego se purificó mediante HPLC preparativa.

HPLC preparativa:

Un HPLC Prep en fase inversa Agilent 1260 o un HPLC Prep en fase inversa Knauer AZURA se usó para la purificación. Se elige la columna según los resultados de una selección de columnas. Se disolvió el péptido en 10 – 30% ACN/agua (en general el punto inicial del gradiente). El agua y acetonitrilo contienen 0,1% TFA. La tasa de flujo 20 mL/min, 10-30% ACN/agua a 85% a 90% ACN/agua se usó en general. Se analizaron las fracciones mediante HPLC (Agilent 1260 Infinity) usando una columna Chromolith Speedrod, 5% a 95% ACN/agua gradiente en 8 min) y mediante uno o más de los siguientes métodos LC-MS: método 1, método 2, método 3, método 4, método 5, método 6.

De manera alternativa, se usó una Gilson GX-281 HPLC Prep en fase inversa para la purificación. Se eligió la columna según los resultados de una selección de columnas. Se disolvió el péptido en 10 – 30% ACN/agua (en general el punto inicial del gradiente). El agua contenía 0,075% TFA. Normalmente, se usó una columna Luna (25 × 200 mm, C18 10 □m, 110 Å) o una columna Gemini (30 × 150 mm, C18 5 □m, 110 Å). Las condiciones para la HPLC preparativa: tasa de flujo 20 mL/min, 10-30% ACN/agua a 85% a 90% ACN/agua, longitud de la onda 214/254 nm, temperatura del horno 30 ^{o}C. Se analizaron las fracciones mediante HPLC (Agilent 1260 Infinity) usando el método W1 o método 7. Luego, se analizaron los péptidos mediante una o más de los siguientes métodos: método 1, método 2, método 3, método 4, método 5, método 6.

Los miméticos de disulfuro, donde el enlace de -S-S- disulfuro se reemplaza por un -CH_2-S-, -S-CH_2-, -CH_2-CH_2-, -S-$(CH_2)_2$-, -$(CH_2)_2$-S- o un -CH_2-S-CH_2- se puede preparar de acuerdo con el procedimiento descrito en las siguientes referencias en combinación con los métodos descritos en la presente: (1) Hong-Kui Cui, Ye Guo, Yao He, Feng-Liang Wang, Hao-Nan Chang, Yu-Jia Wang, Fang-Ming Wu, Chang-Lin Tian, Lei Liu *Angew. Chem. Int. Ed*. **2013**, *52*, 9558–9562; (2) Ye Guo, De-Meng Sun, Feng-Liang Wang, Yao He, Lei Liu, Chang-Lin Tian *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015,** *54*, 14276–14281; (3) Yang Xu, Tao Wang, Chao-Jian Guan, Yi-Ming Li, Lei Liu, Jing Shi, Donald Bierer *Tetrahedron Letters* **2017**, *58*, 1677–1680; (4) Tao Wang, Yi-Fu Kong, Yang Xu, Jian Fan, Hua-Jian Xu, Donald Bierer, Jun Wang, Jing Shi, Yi-Ming Li *Tetrahedron Letters* **2017**, *58*, 3970–3973; (5) Tao Wang, Jian Fan, Xiao-Xu Chen, Rui Zhao, Yang Xu, Donald Bierer, Lei Liu, Yi-Ming Li, Jing Shi, Ge-Min Fang *Org. Lett.* **2018**, *20*, 6074−6078; (6) Jan- Patrick Fischer, Ria Schönauer, Silvia Els-Heindl, Donald Bierer, Johannes Koebberling, Bernd Riedl, Annette G. Beck-Sickinger *J Pep Sci.* **2019**; e3147; (7) Dong-Liang Huang, Jing-Si Bai, Meng Wu, Xia Wang, Bernd Riedl, Elisabeth Pook, Carsten Alt, Marion Erny, Yi-Ming Li, Donald Bierer, Jing Shi, Ge-Min Fang *Chem. Commun.*, **2019**, *55*, 2821−2824; (8) Shuai-Shuai Sun, Junyou Chen, Rui Zhao, Donald Bierer, Jun

Wang, Ge-Min Fang, Yi-Ming Li *Tetrahedron Letters* **2019**, *60*, 1197–1201; (9) C. M. B. K. Kourra and N. Cramer *Chem. Sci*., **2016**, *7*, 7007–7012.

Todos los péptidos de esta invención a menos que se indique lo contrario son las sales de TFA.

Método general para la SPPS automatizada de los péptidos Masp (método A)

La síntesis de ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2 (ejemplo, 165) es representativa.

Se sintetizó el péptido usando la química estándar de Fmoc.

Se realizó la SPPS automatizada en un sintetizador de péptidos Symphony X (Protein Technologies). En general, se usó la resina de amida ChemMatrix Rink (carga de 0,5 mmol/gramo) en una escala de 0,1 mmol. Se colocó la resina en el recipiente de reacción y se colocó en el instrumento. Se prepararon las siguientes soluciones y se usaron durante la síntesis:

1) Aminoácidos Fmoc: 0,2 M (8 eq)
2) Activador 1: 0,5 M DIC en DMF (7,5 eq)
3) Activador 2: 0,5 M oxima en DMF (7,5 eq)
4) Desprotección de Fmoc: 20% de piperidina en DMF
5) Anhídrido acético (10 equivalentes) en 2 mL DMF

En general, se realizaron acoplamientos dobles para cada aminoácido. Para los aminoácidos no naturales Fmoc o Boc costosos, los aminoácidos Fmoc sintetizados en el laboratorio o aminoácido N-metilado, se interrumpió la secuencia y este aminoácido se acopló de forma manual (acoplamiento doble, pero en general con menos reactivo (3-5 eq). Después de que se completó este acoplamiento, en general, se continuó la síntesis en el sintetizador. Si se agregó un aminoácido N-metil a la secuencia, en general, también se acopló el siguiente aminoácido de forma manual. Se realizaron todos los pasos a temperatura ambiente en nitrógeno. Fmoc-Pen y Fmoc-Oic en general se acoplaron usando SPPS automatizada. Fmoc(N-Me)G en general se acopló de forma manual. Ahx siempre se acopló de forma manual.

Se expandió la resina y se lavó con DMF (3 × 3 mL, 10 min). Si la resina contenía Fmoc, entonces se eliminaba Fmoc con 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Asp(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Asp(Ot-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Pro (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Pro (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Pen(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Pen(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el aco-

plamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Oic (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Oic (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Pro (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Pro (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Leu (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Leu (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Arg(Pbf) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Arg(Pbf) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el aco-

plamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Cys(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Cys(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento manual durante la SPPS automatizada:

Se agregó Fmoc-(N-Me)G (0,2 M en DMF, 5 equiv) a la resina. Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con agitación (termomezclador, rt) durante 2 horas. Se filtró la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-(N-Me)G (0,2 M en DMF, 5 equiv). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con agitación (termomezclador, rt) durante 2 horas. Se filtró la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Si había aminoácidos adicionales presentes en la secuencia, se acoplaban usando los pasos descritos arriba.

Escisión de la prueba:

Cuando se realizaron los acoplamientos manuales, se realizó una escisión de la prueba en general para monitorear las reacciones. La mezcla de la escisión de la prueba fue TFA/EDT/tioanisol (90:3:7); agitación durante 1,5 h en un ter-

momezclador a temperatura ambiente y 750 rpm. Se realizó el análisis mediante LC-MS usando uno de los métodos de arriba.

Escisión completa:

La resina que contiene el péptido se colocó en una jeringa y se agregó 3,0 mL del tampón de la escisión TFA/EDT/tioanisol (90:3:7) a la resina. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Se recopiló la solución mediante la filtración y se precipitó el péptido al añadir éter dietílico frío (-20 ^{o}C). La solución se centrifugó (3000 rpm) en un tubo falcon (60 mL) en una atmósfera de nitrógeno. El éter se decantó y el residuo del sólido se lavó de forma repetida con éter dietílico frío (5 × 10 mL). Luego, el residuo del sólido se secó.

Ciclización de disulfuro:

El péptido crudo se disolvió en 0,1 M de bicarbonato amonio (pH 7,8 a 8,2) en una concentración de 1 mg/2 mL. Se permitió que la solución se agite en un agitador orbital durante la noche en un matraz de fondo redondo abierto al aire. Luego, la solución se liofilizó para obtener un polvo blanco.

Selección de la columna para la purificación de la HPLC:

El péptido se disolvió en 5% CH_3CN y 95% agua. Se realizó la selección de la columna en cada péptido para determinar qué método de HPLC preparativa usar para la purificación. Se seleccionaron las siguientes columnas analíticas.

Hay disponibles dos métodos para la selección de columnas:

1) 5-60% ACN_8 Min_1 mL/min_25 °C
2) 30-85% ACN_8 Min_1 mL/min_25 °C

Columnas disponibles (50 mm × ID 4,6 mm) (disponibles también como columnas Prep):

1) Aeris C18 (Phenomenex)
2) X-Bridge C18 (Waters)
3) Kinetex C18 (Coreshell Material) (Phenomenex)

4) YMC Triart C18 (elución con 100% agua posible)
5) Kinetix Biphenyl (Phenomenex)
6) X-Select C18 (carga positiva)
7) Jupiter Proteo C18 (Phenomenex)
8) Luna C18 (Phenomenex)

Para los péptidos de esta invención, se usó una de las siguientes 5 columnas preparativas:

1) Columna: Phenomenex, péptido Aeris 5 µ XB-C18, AXIA Packed, 21,2 × 250 mm + cartucho 5 µ
2) Columna: Phenomenex, Kinetex C18 5 µ 21,5 × 250 mm + cartucho 5 µ
3) Columna: Phenomenex, Kinetex 5 µ Bifenil 100A, AXIA Packed, 21,2 × 250 mm + cartucho 5 µ
4) Columna: YMC Actus Triart Prep. C18 12 nm, S-10 µm 250 × 20 mm + cartucho 3 µm (10 × 4 mm)
5) Columna: Waters, Xbridge Prep.C18 5 µ OBD 19 × 250 mm + cartucho 10 µ

Una vez que se eligió la columna, se usó uno de los siguientes métodos:

1) método: Gradiente 5% a 60% ACN en agua (0,10% TFA)
2) método: Gradiente 30% a 85% ACN en agua (0,10% TFA)
3) gradiente enfocada basada en los resultados de la selección de la columna.

Tasa de flujo 20 mL/min

Se analizaron las fracciones combinadas por HPLC (5 a 95 en 8 in, Chromolith SpeedROD & YMC C18 5 a 95 en 18 min) y usando uno de los métodos LC-MS descritos arriba.

Por ejemplo, 165, el péptido crudo se disolvió en CH_3CN/agua (1:1) y se purificó en una columna Phenomenex Kinetex C18 5 µ, 21,5 × 250 mm + 5 µ cartucho, tasa de flujo: 20 mL/min, método: 5-60% ACN en agua (cada una contiene 0,10% TFA) por 48 min. Se liofilizaron las fracciones combinadas para proporcional 39 mg del ejemplo, 165 (95% puro).

Tabla 6: Nota de los materiales usados y las condiciones

N.º	**Materiales**	**Reactivos de acoplamiento**	**Tiempo de acoplamiento**
1	Resina Rink amida ChemMatrix, carga de 0,5 mmol/g (0,1 mmol)	---	
2	Fmoc-Asp(t-Bu)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
3	Fmoc-Pro-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
4	Fmoc-Ile-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
5	Fmoc-Pen(Trt)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
6	Fmoc-Ile-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
7	Fmoc-Oic-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
8	Fmoc-Pro-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
9	Fmoc-Leu-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
10	Fmoc-Ser(tBu)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
11	Fmoc-Arg(Pbf)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
12	Fmoc-Ser(t-Bu)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
13	Fmoc-Cys(Trt)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima	120 min

		(7,5 eq)	
14	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
15	Fmoc-(N-Me)G-OH (8 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min

Método general para la SPPS automatizada de los péptidos Masp (método B)

La síntesis de ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-((5-Azaspiro[2,4]heptano-1-ácido carboxílico)-OH (ejemplo, 164) es representativa.

Se sintetizó el péptido usando la química estándar de Fmoc.

Cuando era posible, se usaban resina Wang con el primer aminoácido (p. ej. precargada con Fmoc-Asp(t-Bu)-OH, Fmoc-Pro-OH, etc., con una carga típica de 0,55 mmol/g a 0,7 mmol/g). Cuando no estaba disponible el primer aminoácido, se agregó manualmente.

Cuando no estaba disponible el primer aminoácido como una resina precargada, se agregó manualmente y se usó resina clorotritil para la síntesis.

Carga del primer aminoácido en resina 2-clorotritil:

Se permitió que la resina 2-Clortritil (500 mg, 0,775 mmol) se expandiera con 10 mL de DCM en un tubo falcon de 50 mL durante 15 min 5-[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-5-azaspiro[2,4]heptano-1-ácido carboxílico (281 mg, 0,775 mmol) se disolvió en DCM con DIEA (6 equiv, 0,81 mL) agregado y la solución se agregó a la resina. Se purgó la solución con argón y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se filtró y se lavó la mezcla con DMF (3 × 5 mL) y DCM (3 × 5 mL). Se agregó metanol (5 mL), se agitó la mezcla durante 30 minutos y luego se filtró. La resina se lavó con DMF (3 × 5 mL) y DCM (3 × 5 mL). Se agregó nuevamente metanol (5 mL), se agitó la mezcla durante 30 minutos y luego se filtró. La resina se lavó con DMF (3 × 5 mL) y

DCM (3 × 5 mL). La carga se determinó en 0,42 mmol/g según la determinación del procedimiento de carga descrito a continuación.

Luego, se usó la resina para la SPPS automatizada en el sintetizador Symphony X de Protein Technologies en una escala de 0,1 mmol.

Determinación de la carga de resina:

Para determinar la carga de una resina, el grupo de protección de FMOC se escinde a partir de una cantidad definida de resina y después, la concentración del compuesto de fluorenil resultante en la solución de la escisión del sobrenadante se mide a través de fotometría a 301 nm. Esto se correlaciona directamente con la cantidad de aminoácido cargado en la resina.

1) Se pondera 1 mg a 3 mg de resina en un tubo de 2 mL Eppendorf o similar (observe la cantidad exacta)
2) Se agregan 1000 µL de una solución de 20% piperidina en DMF.
3) Se agitan la mezcla durante 30 minutos para escindir el grupo de FMOC.
4) Luego se transfieren 100 µL de la solución del sobrenadante en una cubeta de vidrio de cuarzo y se diluye con 900 µL de 20% piperidina/DMF
5) Una muestra blanca de 1000 µl piperidina/DMF se prepara en una segunda cubeta.
6) Después de la determinación del valor blanco a partir de la muestra de referencia, la extinción de la muestra de la prueba a λ = 301 nm luego se mide en un fotómetro UV-Vis (Thermo Scientific Evolution 201).
7) Para una mayor precisión, se pueden diseñar varias muestras de prueba (en general dos); la media aritmética de las extinciones medidas luego se usa para el cálculo.

Cálculo de la carga de resina:

La carga de resina L_{301} en mmol/g se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$L_{301} = \frac{\square(301\square\square)\cdot\square}{\square(301\square\square)\cdot\ \square\cdot\square}\cdot VF\cdot 1000$$

E = extinción

ε = coeficiente de extinción a 301 nm longitud de onda (7800 L/mol*cm)

m = cantidad de resina usada (g)

V = volumen de la muestra (L)

D = grosor de la capa de la cubeta (cm)

VF = factor de dilución (= 10)

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

El acoplamiento de los aminoácidos Fmoc subsiguientes prosiguieron como se describe en el método A.

Se prepararon las siguientes soluciones y se usaron durante la síntesis:

1) Aminoácidos Fmoc: 0,2 M (8 eq)
2) Activador 1: 0,5 M DIC en DMF (7,5 eq)
3) Activador 2: 0,5 M oxima en DMF (7,5 eq)
4) Desprotección de Fmoc: 20% de piperidina en DMF
5) Anhídrido acético (10 equivalentes) en 2 mL DMF

En general, se realizaron acoplamientos dobles para cada aminoácido. Para los aminoácidos no naturales Fmoc o Boc costosos, los aminoácidos Fmoc sintetizados en el laboratorio o aminoácido N-metilado, se interrumpió la secuencia y este aminoácido se acopló de forma manual (acoplamiento doble, pero en general con menos reactivo (3-5 eq). Después de que se completó este acoplamiento, en general, se continuó la síntesis en el sintetizador. Si se agregó un aminoácido N-metil a la secuencia, en general, también se acopló el siguiente aminoácido de forma manual. Se realizaron todos los pasos a temperatura ambiente en nitrógeno. Fmoc-Pen y Fmoc-Oic en general se acoplaron usando SPPS automatizada. Fmoc(N-Me)G en general se acopló de forma manual. Ahx siempre se acopló de forma manual.

Escisión de Fmoc:

Se expandió la resina y se lavó con DMF (3 × 3 mL, 10 min). Si la resina contenía Fmoc, entonces se eliminaba Fmoc con 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Pen(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Pen(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC,

1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Oic (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Oic (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Pro (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Pro (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Leu (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Leu (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Arg(Pbf) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Arg(Pbf) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC,

1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ser(t-Bu) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Cys(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Cys(Trt) (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento:

Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-Ile (4,0 mL). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con burbujeo de nitrógeno durante 2 horas. Se drenó la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Acoplamiento manual durante la SPPS automatizada:

Se agregó Fmoc-(N-Me)G (0,2 M en DMF, 5 equiv) a la resina. Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con agitación (termomezclador, rt) durante 2 horas. Se filtró la solución y se lavó con DMF (1 × 3 mL, 30 seg). Se repitió el acoplamiento. Se agregó Fmoc-(N-Me)G (0,2 M en DMF, 5 equiv). Se agregaron la solución del Activador 1 (DIC, 1,5 mL) y la solución del Activador 2 (oxima, 1,5 mL) se permitió que el acoplamiento proceda con agitación (termomezclador, rt) durante 2 horas. Se filtró la solución y se lavó con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Escisión de Fmoc:

Se eliminó el grupo de protección de Fmocal añadir 20% de solución de piperidina (2 × 3 mL, 10 min). Se lavó la resina con DMF (6 × 3 mL, 30 seg).

Si había aminoácidos adicionales presentes en la secuencia, se acoplaban usando los pasos descritos arriba.

Escisión de la prueba:

Cuando se realizaron los acoplamientos manuales, se realizó una escisión de la prueba en general para monitorear las reacciones. La mezcla de la escisión

de la prueba fue TFA/EDT/tioanisol (90:3:7); agitación durante 1,5 h en un termomezclador a temperatura ambiente y 750 rpm. Se realizó el análisis mediante LC-MS usando uno de los métodos de arriba.

Escisión completa:

La resina que contiene el péptido se colocó en una jeringa y se agregó 3,0 mL del tampón de la escisión TFA/EDT/tioanisol (90:3:7) a la resina. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Se recopiló la solución mediante la filtración y se precipitó el péptido al añadir éter dietílico frío (-20 ^{o}C). La solución se centrifugó (3000 rpm) en un tubo falcon (60 mL) en una atmósfera de nitrógeno. El éter se decantó y el residuo del sólido se lavó de forma repetida con éter dietílico frío (5 × 10 mL). Luego, el residuo del sólido se secó.

Ciclización de disulfuro:

El péptido crudo se disolvió en 0,1 M de bicarbonato amonio (pH 7,8 a 8,2) en una concentración de 1 mg/2 mL. Se permitió que la solución se agite en un agitador orbital durante la noche en un matraz de fondo redondo abierto al aire. Luego, la solución se liofilizó para obtener un polvo blanco.

Selección de la columna para la purificación de la HPLC:

El péptido se disolvió en 5% CH_3CN y 95% agua. Se realizó la selección de la columna en cada péptido para determinar qué método de HPLC preparativa usar para la purificación. Se seleccionaron las siguientes columnas analíticas.

Hay disponibles dos métodos para la selección de columnas:

1) 5-60% ACN_8 Min_1 mL/min_25 °C
2) 30-85% ACN_8 Min_1 mL/min_25 °C

Columnas disponibles (50 mm × ID 4,6 mm) (disponibles también como columnas Prep):

1) Aeris C18 (Phenomenex)
2) X-Bridge C18 (Waters)
3) Kinetex C18 (Coreshell Material) (Phenomenex)
4) YMC Triart C18 (elución con 100% agua posible)
5) Kinetix Biphenyl (Phenomenex)

6) X-Select C18 (carga positiva)
7) Jupiter Proteo C18 (Phenomenex)
8) Luna C18 (Phenomenex)

Para los péptidos de esta invención, se usó una de las siguientes 5 columnas preparativas:

1) Columna: Phenomenex, péptido Aeris 5 µ XB-C18, AXIA Packed, 21,2 × 250 mm + cartucho 5 µ
2) Columna: Phenomenex, Kinetex C18 5 µ 21,5 × 250 mm + cartucho 5 µ
3) Columna: Phenomenex, Kinetex 5 µ Bifenil 100A, AXIA Packed, 21,2 × 250 mm + cartucho 5 µ
4) Columna: YMC Actus Triart Prep. C18 12 nm, S-10 µm 250 × 20 mm + cartucho 3 µm (10 × 4 mm)
5) Columna: Waters, Xbridge Prep.C18 5 µ OBD 19 × 250 mm + cartucho 10 µ

Una vez que se eligió la columna, se usó uno de los siguientes métodos:

1) método: Gradiente 5% a 60% ACN en agua (0,10% TFA)
2) método: Gradiente 30% a 85% ACN en agua (0,10% TFA)
3) gradiente enfocada basada en los resultados de la selección de la columna.

Tasa de flujo 20 mL/min

Se analizaron las fracciones combinadas por HPLC (5 a 95 en 8 in, Chromolith SpeedROD & YMC C18 5 a 95 en 18 min) y usando uno de los métodos LC-MS descritos arriba

Por ejemplo, 164, el péptido crudo se disolvió en CH_3CN/agua (1:1) y se purificó en una columna Phenomenex Kinetex C18 5 µ, 21,5 × 250 mm + 5 µ cartucho, tasa de flujo: 20 mL/min, método: 5-60% ACN en agua (cada una contiene 0,10% TFA) por 48 min. Se liofilizaron las fracciones combinadas para proporcional 29,8 mg del ejemplo, 164 (98,3% puro).

Tabla 7: Nota de los materiales usados y las condiciones

N.º	Materiales	Reactivos de acoplamiento	Tiempo de acoplamiento
1	Resina Rink amida ChemMatrix, carga de 0,5 mmol/g (0,1 mmol)	---	
2	5-Fmoc-5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico	DIPEA (6 eq)	durante la noche
3	Fmoc-Ile-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
4	Fmoc-Pen(Trt)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
5	Fmoc-Ile-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
6	Fmoc-Oic-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
7	Fmoc-Pro-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
8	Fmoc-Leu-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
9	Fmoc-Ser(tBu)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
10	Fmoc-Arg(Pbf)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
11	Fmoc-Ser(t-Bu)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
12	Fmoc-Cys(Trt)-OH (8,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min
13	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	DIC (7,5 eq) oxima	120 min

N.º	Materiales	Reactivos de acoplamiento	Tiempo de acoplamiento
		(7,5 eq)	
14	Fmoc-(N-Me)G-OH (8 eq)	DIC (7,5 eq) oxima (7,5 eq)	120 min

Método general para la SPPS manual de los péptidos Masp (método C)

La síntesis de secuencia AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPN-OH (ejemplo, 418) es representativa.

Síntesis del péptido:

Se sintetizó el péptido usando la química estándar de Fmoc.

1) Preparación de la resina: A la resina clorotritil (CTC Resin) (0,3 mmol, 0,3 g, 1,0 mmol/g) se agregó Fmoc-Asn(Trt)-OH (0,3 mmol, 0,18 g, 1,0 eq) y DIEA (0,21 mL, 1,2 mmol, 4,0 eq) en DCM (6,0 mL). Se agitó la mezcla con N_2 durante 2 horas a 20 °C, luego se agregó MeOH (0,3 mL) y se agitó con N_2 durante otros 30 min. La resina se lavó con DMF (6,0 mL × 3). Luego se agregó 20% de piperidina en DMF (6,0 mL) y la mezcla se agitó con N_2 durante 20 min a 20 °C. Luego la mezcla se filtró para obtener la resina. Se lavó la resina con DMF (6,0 mL × 3) y se filtró para obtener la resina.
2) Acoplamiento: Fmoc-Pro-OH (0,30 g, 0,9 mmol, 3,0 eq) HBTU (0,32 g, 0,85 mmol, 2,85 eq) y DIEA (1,80 mmol, 0,32 mL, 6,00 eq) en DMF (3,0 mL) se agregó a la resina y se agitó con N_2 durante 30 min a 20 °C. La resina luego se lavó con DMF (6,0 mL × 5).
3) Desprotección: Se agregó 20% de piperidina en DMF (6,0 mL) a la resina y la mezcla se agitó con N_2 durante 20 min a 20 °C.
4) Repita los pasos 2 a 3 para todos los otros aminoácidos:

Tabla 8: Nota de los materiales usados y las condiciones

N.º	Materiales	Reactivos de acoplamiento	Tiempo de acoplamiento
1	Fmoc-Asn(Trt)-OH (1,0 eq)	DIEA(4,0 eq)	2,0 h
2	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
3	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
4	Fmoc-Pen(Trt)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
5	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
6	Fmoc-Oic-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
7	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
8	Fmoc-Leu-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
9	Fmoc-Ser(tBu)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
10	Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
11	Fmoc-Ser(tBu)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
12	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
13	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
14	Fmoc-Ala-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min

Se usó 20% de piperidina en DMF para la desprotección de Fmoc durante 30 min. La reacción del acoplamiento se monitoreó por ninhidrina (todos los aminoácidos excepto Pro) y prueba de cloranil (Pro) y la resina se lavó con DMF (5,0 mL) 5 veces.

Escisión y purificación del péptido:

1) Se lavó la resina con MeOH (6,0 mL × 5) y se secó al vacío para obtener 0,62 g de resina del péptido. Luego, se agregó 6,0 mL del tampón de escisión (92,5%TFA/2,5%EDT/2,5%TIS/2,5%H_2O) al matraz que contiene la resina del péptido protegido por la cadena lateral a 20 °C y la mezcla se agitó durante 2,5 h.
2) Se precipitó el péptido con éter metil tert-butílico frío (50 mL) y se centrifugó (3 min a 3000 rpm) para obtener el crudo sólido. Lave la precipitación del péptido crudo con éter metil tert-butílico dos veces más (20,0 mL × 3). Seque el péptido crudo al vacío durante 2,0 h para obtener 0,4 g de péptido crudo.
3) El crudo (0,4 g) se disolvió en CH_3CN (150 mL) y agua (150 mL). Se agregó yoduro (I_2) (0,1 M en MeOH, 1,5 mL) a 20 °C hasta que persiste el color amarillo. Luego se agitó la mezcla a 20 °C durante 2 min. Luego se agregó tiosulfato de sodio (0,1 M en agua, 0,05 mL) gota a gota hasta que desaparece el color amarillo. Se liofilizó la mezcla para obtener el polvo crudo (0,41 g)
4) Se purificó el péptido crudo mediante HPLC preparativa (condiciones: A: 0,075% TFA en agua B: CH_3CN) y liofilizó para obtener el péptido deseado (ejemplo, 418) (108,1 mg, rendimiento del 23,0%, 97,3% puro por el método W1; 97,4% puro por el método 7) como un sólido blanco y sal de TFA. Condiciones de purificación: Se disolvió el péptido en TFA/H_2O (7:3); tasa de flujo 20 mL/min; gradiente 12-42% en 60 min; tiempo de retención = 42 min; purificación en una columna Luna 25 × 200 mm, C18

10 um, 110 Å, luego de nuevo en una columna Gemini 150 × 30 mm, C18 5 um, 110 Å para lograr la pureza deseada.

Si las amidas C-terminal se prepararon de acuerdo con este método, en síntesis, comenzó con una resina Rink amida MBHA (la carga en general de aproximadamente 0,4 mmol/g a 0,6 mmol/g, y los pasos de arriba son los mismos).

Método general para la SPPS manual de los péptidos Masp (método D)

Si se prepararon las amidas C-terminal, la síntesis comenzó con la resina Rink amida MBHA (la carga en general de aproximadamente 0,4 mmol/g a 0,6 mmol/g). La síntesis de secuencia PIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH2 (ejemplo, 9) es representativa.

Si se prepararon los ácidos C-terminal, la síntesis comenzó con la resina 2-clorotritil, con el primer aminoácido Fmoc que se agrega de acuerdo con los métodos descritos en el método C.

Síntesis del péptido:

Se sintetizó el péptido usando la química estándar de Fmoc.

1) Preparación de la resina: La resina Rink amida MBHA (0,66 g, 0,30 mmol, carga = 0,45 mmol/g) en DMF (10,0 mL) se agitó con N_2 durante 0,5 h a 20 °C. Luego se agregó 20% de piperidina en DMF (10 mL) y la mezcla se agitó con N_2 durante 20 min a 20 °C. Luego la mezcla se filtró para obtener la resina. Se lavó la resina con DMF (10 × 5 mL) y se filtró para obtener la resina.
2) Acoplamiento: Fmoc-Asn(Trt)-OH (0,9 mmol, 0,37 g, 3,0 eq) HBTU (0,32 g, 0,85 mmol, 2,95 eq) y DIEA (1,80 mmol, 0,32 mL, 6,00 eq) en DMF (3,0 mL) se agregó a la resina y se agitó con N_2 durante 30 min a 20 °C. Luego se lavó la resina con DMF (10,0 mL × 3).
3) Desprotección: Se agregó 20% de piperidina en DMF (10,0 mL) a la resina y la mezcla se agitó con N_2 durante 20 min a 20 °C.
4) Repita los pasos 2 a 3 para todos los otros aminoácidos.

Tabla 9: Nota de los materiales usados y las condiciones

N.º	Materiales	Reactivos de acoplamiento	Tiempo de acoplamiento
1	Fmoc-Asn(Trt)-OH (1,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
2	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
3	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
4	Fmoc-Pen(Trt)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
5	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
6	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
7	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
8	Fmoc-Ala(t-Bu)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
9	Fmoc-Ser(tBu)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
10	Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
11	Fmoc-Ser(tBu)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
12	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
13	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq) DIEA(6,0 eq)	30 min
14	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU(2,85 eq)	30 min

N.º	Materiales	Reactivos de acoplamiento	Tiempo de acoplamiento
		DIEA(6,0 eq)	

Se usó 20% de piperidina en DMF para la desprotección de Fmoc durante 30 min. La reacción del acoplamiento se monitoreó por ninhidrina (todos los aminoácidos excepto Pro) y prueba de cloranil (Pro) y la resina se lavó con DMF (5,0 mL) 5 veces.

Escisión y purificación del péptido:

1) Se lavó la resina con MeOH (6,0 mL × 5) y se secó al vacío para obtener 0,66 g de resina del péptido. Luego, se agregó 6,0 mL del tampón de escisión (90%TFA/5%EDT/2,5%TIS/2,5%H_2O) al matraz que contiene la resina del péptido protegido por la cadena lateral a 20 °C y la mezcla se agitó durante 2,5 h.

2) Se precipitó el péptido con éter metil tert-butílico frío (50 mL) y se centrifugó (3 min a 3000 rpm) para obtener el crudo sólido. La precipitación del péptido crudo se lavó con éter metil tert-butílico tres veces más (20,0 mL × 3). Seque el péptido crudo al vacío durante 2,0 h para obtener 0,4 g de péptido crudo.

3) El crudo (0,4 g) se disolvió en CH_3CN (15 mL) y agua (15 mL) para lograr una concentración de 0,1 mm. Se agregó la solución NH_4HCO_3 (1 M) para ajustar pH a aproximadamente 8 a 9. Se permitió que la solución se agitara a temperatura ambiente durante aproximadamente 8 horas. La reacción se monitoreó mediante HPLC. Después de que se completó la reacción, se extrajo la reacción con ácido acético para ajustar el pH a aproximadamente 6. Luego se liofilizó la mezcla de reacción y el sólido resultante se purificó mediante la HPLC de fase inversa.

4) El péptido crudo purificado mediante la HPLC preparativa (condiciones: A: 0,075% TFA en agua B: CH_3CN) y liofilizó para obtener el péptido desea-

do (ejemplo, 9) (202,40 mg, rendimiento del 41,40%, 93,7% puro por el método W1; 95,1% puro por el método 7) como un sólido blanco y sal de TFA. Condiciones de purificación: El péptido se disolvió en TFA/H_2O (7:3); tasa de flujo 20 mL/min; gradiente 12% a 42% en 60 min; tiempo de retención = 42 min; purificación en una columna Luna 25 × 200 mm, C18 10 □m, 110 Å.

Método general alternativo para la SPPS manual de los péptidos Masp (método E)

La síntesis de secuencia ((2S)-2[(Amino)-2-(tetrahidro-2H-piran-4-il)]ácido acético)-IC+SRSLP-(Oic)-IC+I-OH (ejemplo, 184) es representativa.

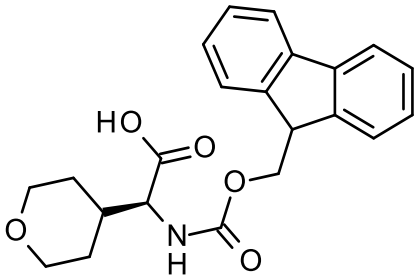
Síntesis del péptido:

Se sintetizó el péptido usando la química estándar de Fmoc.

La bola negra en las estructuras químicas a continuación indica que el respaldo del polímero sólido usado para la síntesis del péptido en fase sólida (SPPS), p. ej. resina 2-clorotritil, resina Rink amida, etc.

Ejemplo, 1A

(2S)-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)(oxan-4-il)ácido acético (estereoisómero único)



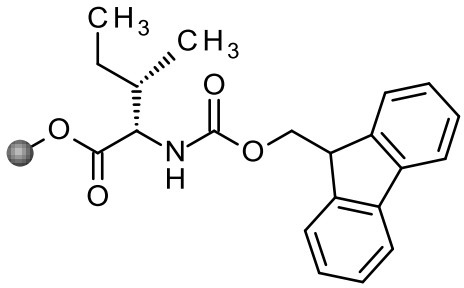
A (2S)-amino(oxan-4-il)ácido acético (950 mg, 5,97 mmol) en acetona/agua (15 mL/10 mL) se agregó bicarbonato de sodio (5,01 g, 59,7 mmol) y 1-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidina-2,5-diona (2,11 g, 6,27 mmol). Se agitó la mezcla durante el fin de semana a temperatura ambiente. Se trató la suspensión con agua y se extrajo con MBTE dos veces más. La fase acuosa se

acidificó con 1 M de ácido hidroclórico acuoso y se extrajo con diclorometano tres veces más. La fase orgánica se lavó con solución de cloruro de sodio acuosa saturada, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y evaporó. El residuo se purificó a través de la cromatografía de gel sílice (Isolera; 50 g SNAP Ultra; gradiente: cicohexano 50%/acetato de etilo 50% + 1% ácido acético a cichohexano 20%/acetato de etilo 80% + 1% ácido acético). Se combinaron y evaporaron las fracciones adecuadas. Se absorbió el residuo en tolueno y se evaporó dos veces más, luego el residuo se secó al vacío para obtener 1,08 g (pureza del 100%, rendimiento del 47%) del compuesto diana.

LC-MS (método 9): R_t = 0,90 min; MS (ESIpos): m/z = 382 $[M+H]^+$

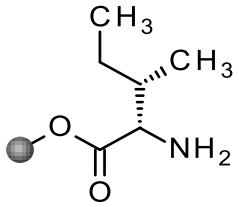
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,150 (0,43), -0,008 (4,33), 0,008 (3,74), 0,146 (0,43), 1,280 (1,03), 1,300 (2,26), 1,309 (2,36), 1,331 (2,75), 1,341 (2,92), 1,371 (2,77), 1,401 (2,54), 1,411 (2,32), 1,430 (1,49), 1,464 (6,34), 1,496 (3,49), 1,932 (1,76), 1,942 (2,14), 1,951 (1,93), 1,960 (2,08), 2,327 (0,64), 2,366 (0,64), 2,670 (0,64), 2,710 (0,65), 3,169 (2,11), 3,212 (2,67), 3,237 (6,32), 3,265 (6,90), 3,704 (0,49), 3,715 (0,49), 3,840 (4,66), 3,854 (5,62), 3,867 (4,30), 3,879 (6,28), 3,899 (5,14), 3,918 (3,56), 4,201 (2,11), 4,218 (5,83), 4,237 (9,07), 4,263 (8,42), 4,274 (9,80), 4,293 (5,14), 4,318 (1,05), 7,309 (6,35), 7,328 (15,12), 7,347 (9,86), 7,400 (9,65), 7,419 (15,88), 7,437 (7,02), 7,652 (5,77), 7,674 (5,52), 7,735 (8,21), 7,740 (8,28), 7,754 (7,63), 7,883 (16,00), 7,902 (14,80), 12,609 (0,56).

Ejemplo, 2A



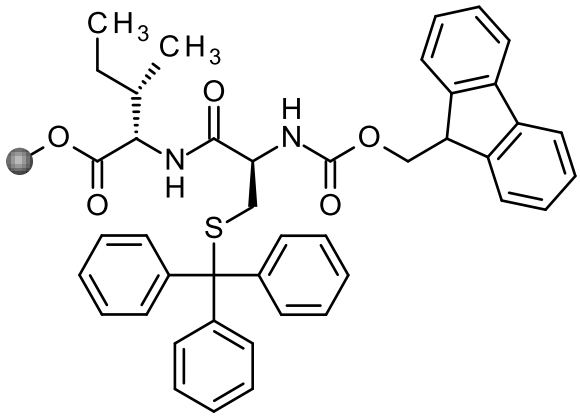
Se llevó a cabo la reacción en una atmósfera de argón. A N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-L-isoleucina (9,40 g, 26,6 mmol) en 53 mL diclorometano se agregó N,N-diisopropiletilamino (19 mL, 110 mmol) y resina 2-clorotritilcloruro (10,0 g, 13,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se recopiló el precipitado mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. La resina recopilada se agitó con diclorometano/metanol 1:1 durante 30 min. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó tres veces en rotación con metanol y diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 3A



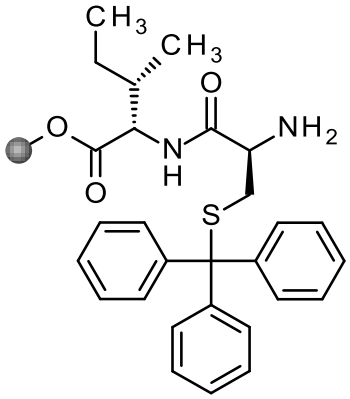
El ejemplo, 2A (15,2 g, 6,82 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavaron tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 4A



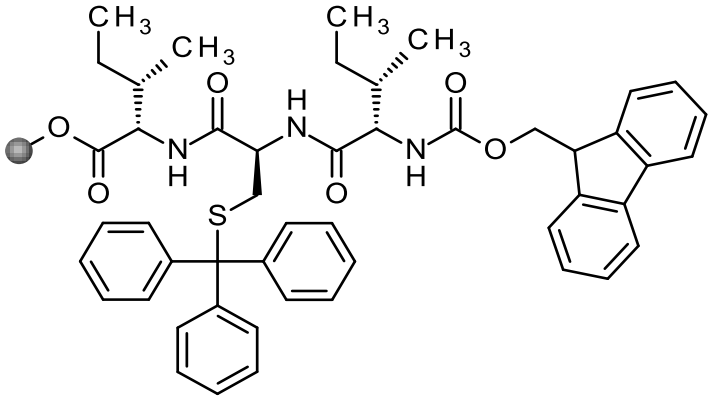
Se expandió el ejemplo, 3A (11,4 g, 5,13 mmol) en 100 mL DMF a temperatura ambiente durante 5 min. Se agregó una mezcla de N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-S-(trifenilmetil)-L-cisteína (6,01 g, 10,3 mmol) en 50 mL DMF, DIC (1,5 mL, 10 mmol) y oxima (1,42 g, 10,0 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitió el paso de acoplamiento durante la noche. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con 150 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 150 mL de metanol y 150 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 5A



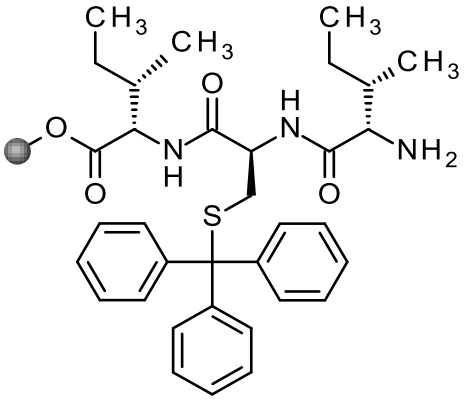
El ejemplo, 4A (18,9 g, 8,51 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 6A



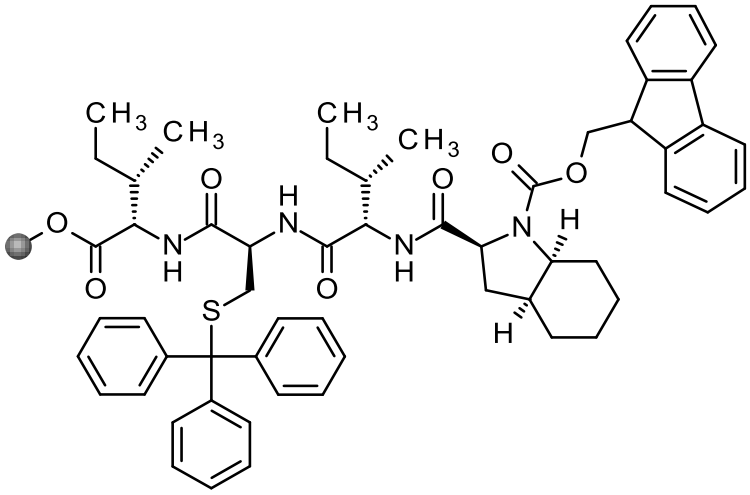
Se expandió el ejemplo, 5A (16,3 g, 7,32 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-L-isoleucina (5,18 g, 14,6 mmol) en 50 mL DMF, DIC (2,2 mL, 14 mmol) y oxima (2,03 g, 14,3 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitió el paso de acoplamiento durante la noche. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 7A



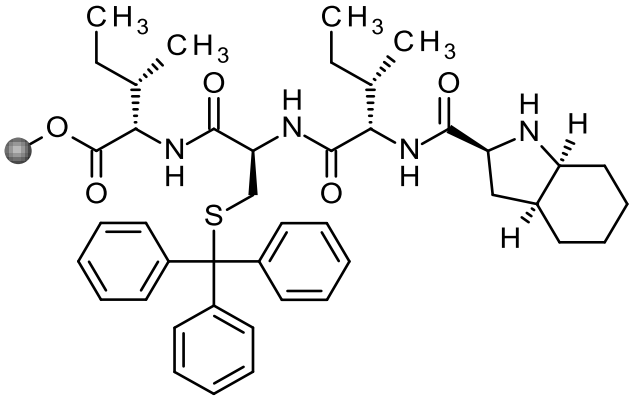
El ejemplo, 6A (20,0 g, 8,98 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 15 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 8A



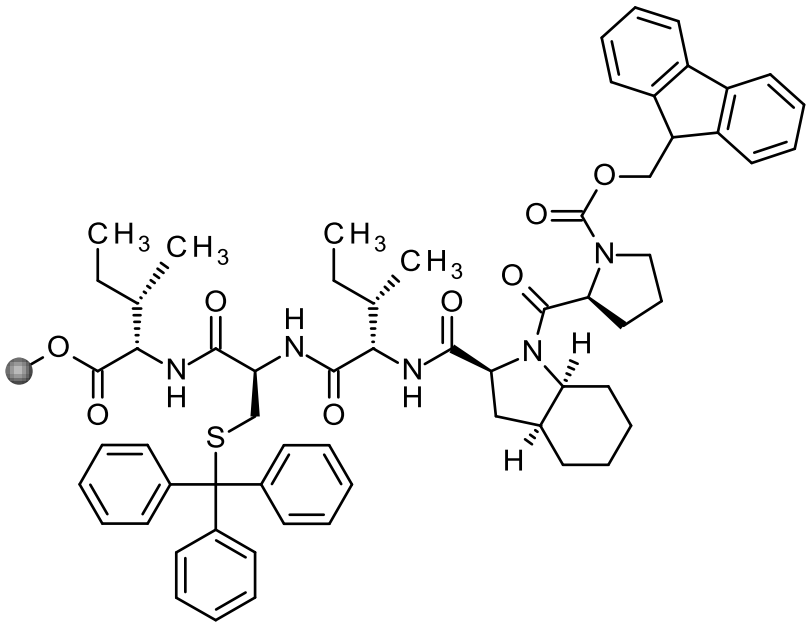
Se expandió el ejemplo, 7A (17,8 g, 7,99 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de (2S,3aS,7aS)-1-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}octahidro-1H-indol-2-ácido carboxílico (6,25 g, 16,0 mmol) en 50 mL DMF, DIC (2,4 mL, 16 mmol) y oxima (2,21 g, 15,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitió el paso de acoplamiento durante el fin de semana. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 9A



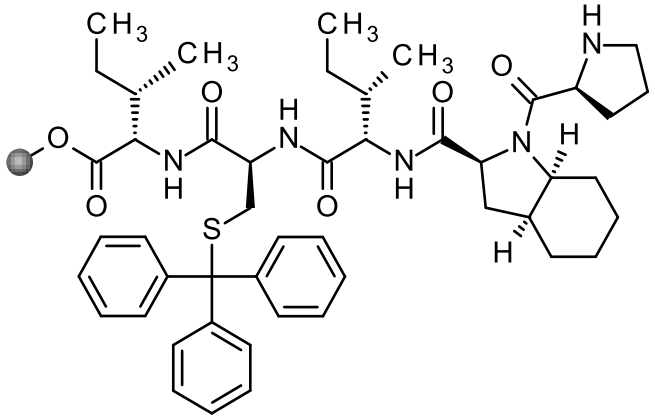
El ejemplo, 8A (21,5 g, 9,68 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. A la resina recopilada se agregó 200 mL de DMF/piperidina 4:1 y se agitó durante 1 h a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 10A



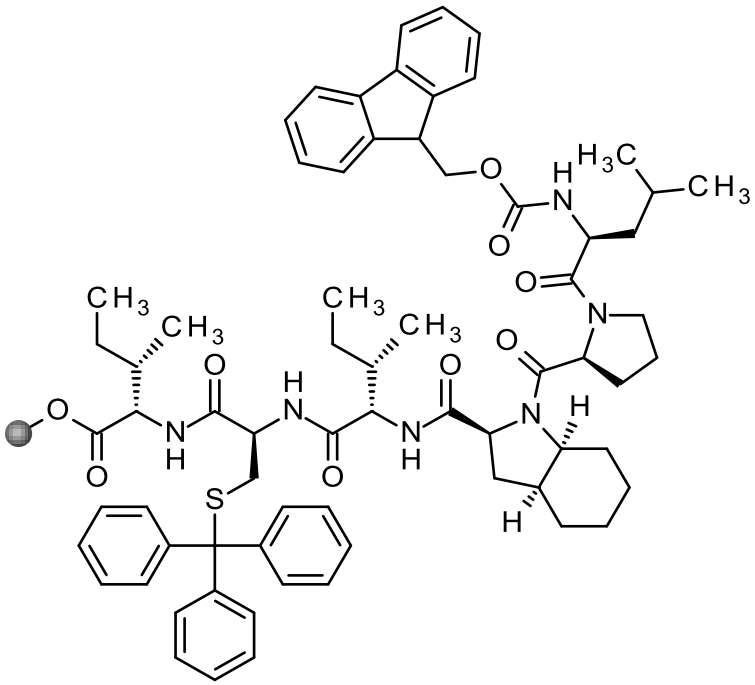
Se expandió el ejemplo, 9A (18,1 g, 8,13 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de 1-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-L-prolina (11,0 g, 32,5 mmol) en 50 mL DMF, DIC (4,9 mL, 32 mmol) y oxima (4,51 g, 31,7 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante el fin de semana a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 11A



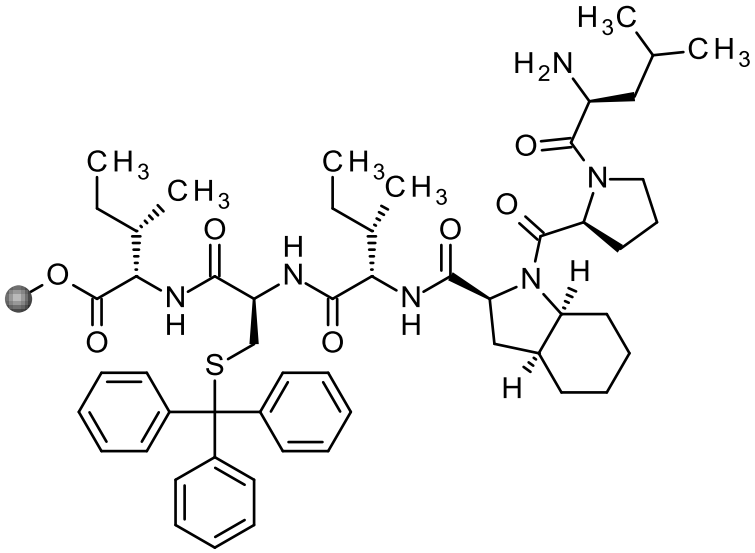
El ejemplo, 10A (20,4 g, 9,16 mmol) en 150 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 12A



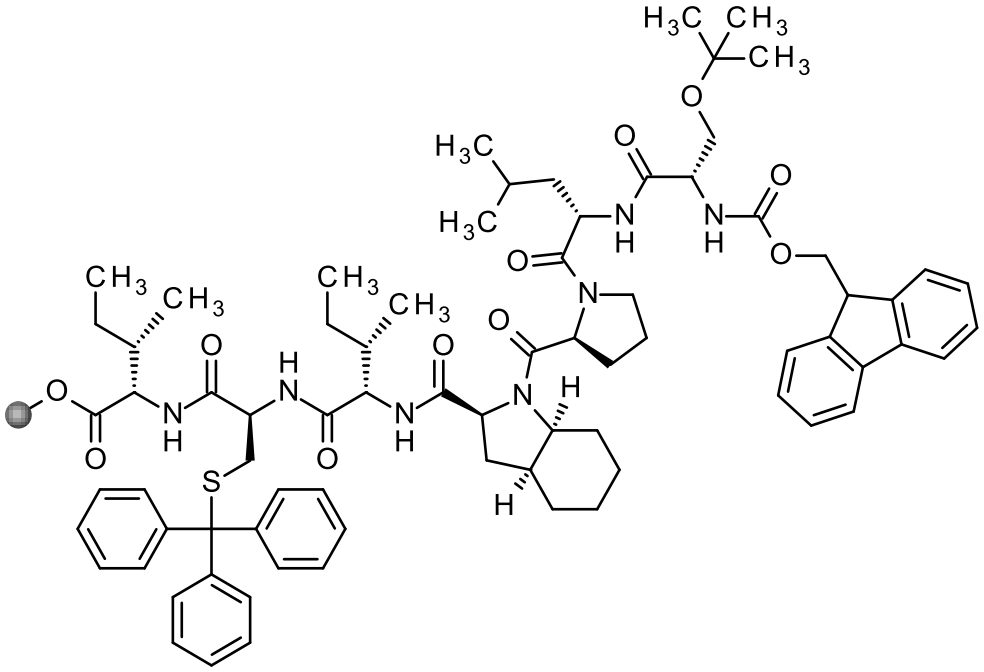
Se expandió el ejemplo, 11A (18,2 g, 8,18 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-L-leucina (11,6 g, 32,7 mmol) en 50 mL DMF, DIC (4,9 mL, 32 mmol) y oxima (4,53 g, 31,9 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 13A



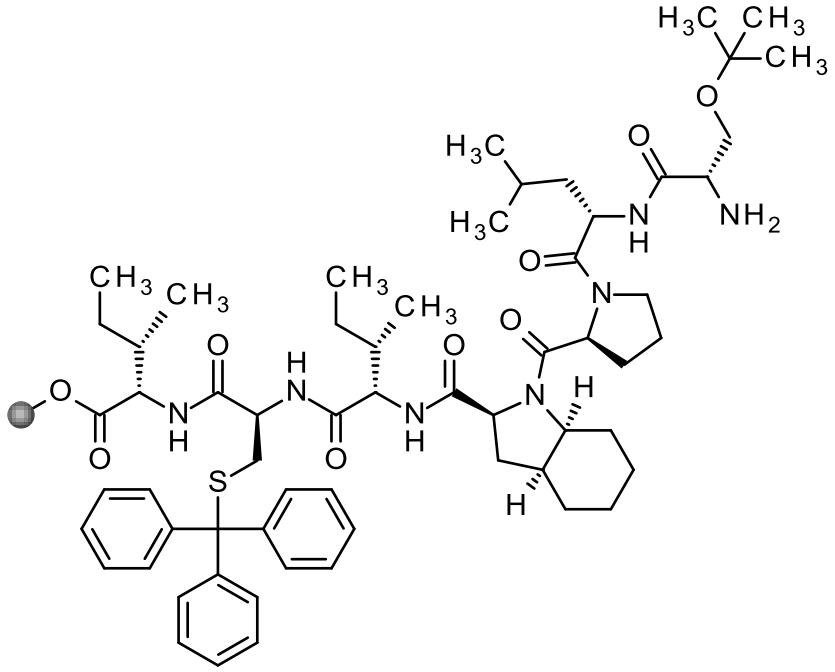
El ejemplo, 12A (20,9 g, 9,42 mmol) en 150 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 14 A



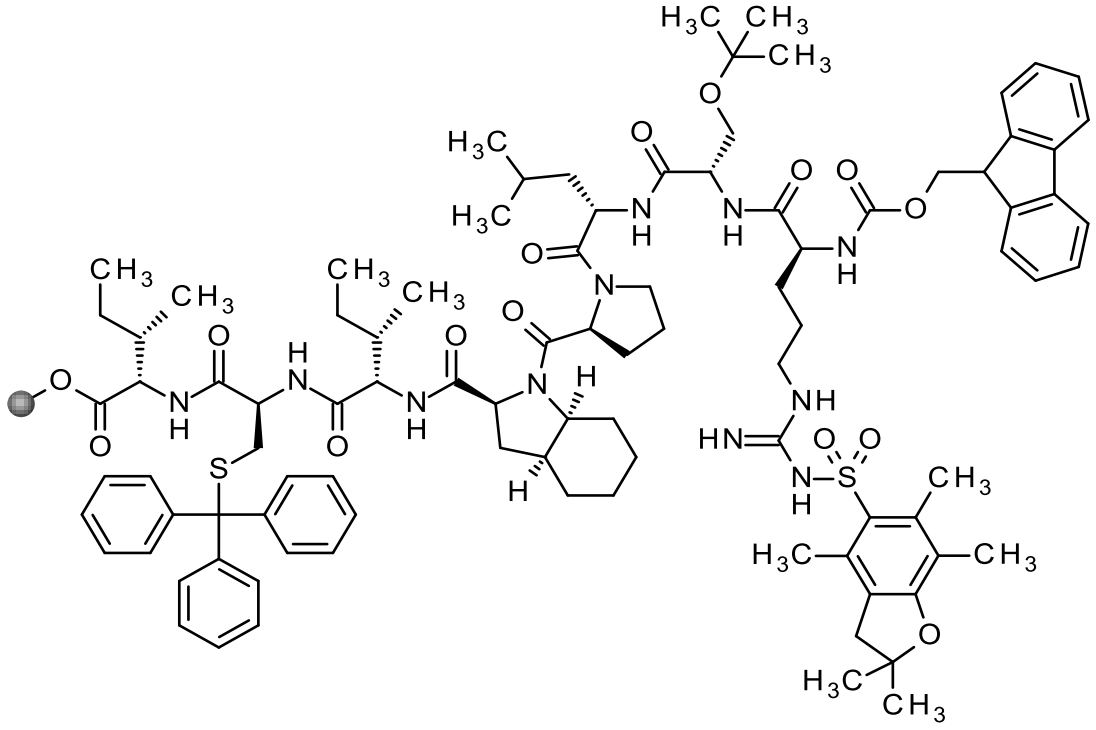
Se expandió el ejemplo, 13A (18,0 g, 8,11 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de O-tert-butil-N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-L-serina (12,4 g, 32,4 mmol) en 50 mL DMF, DIC (4,9 mL, 32 mmol) y oxima (4,49 g, 31,6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 15 A



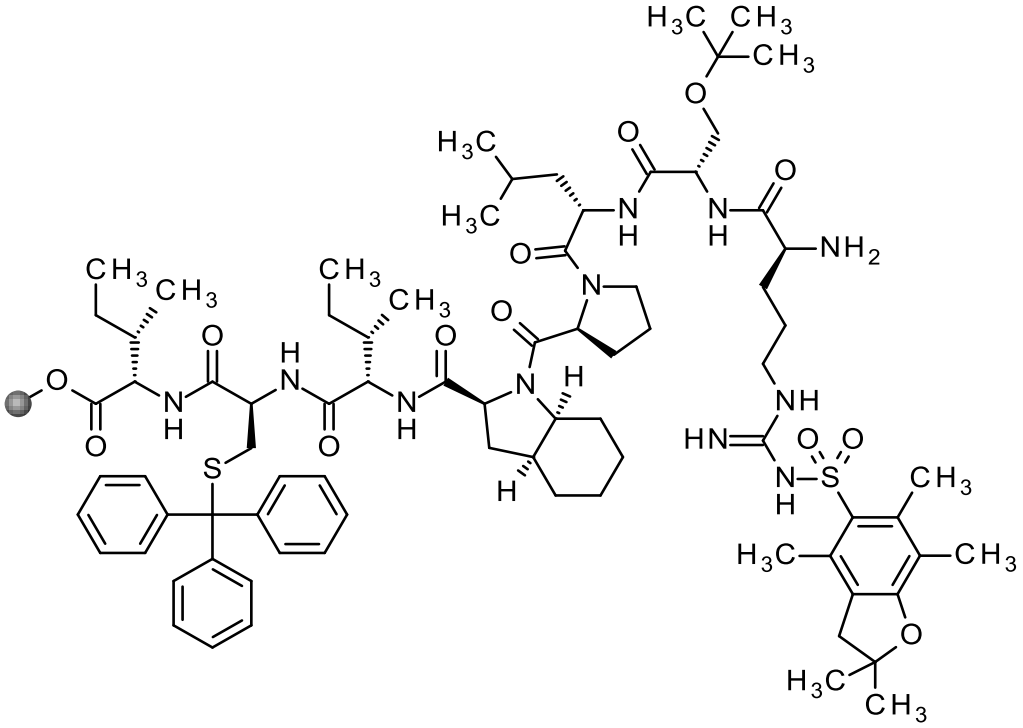
El ejemplo, 14A (21,4 g, 9,64 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 16A



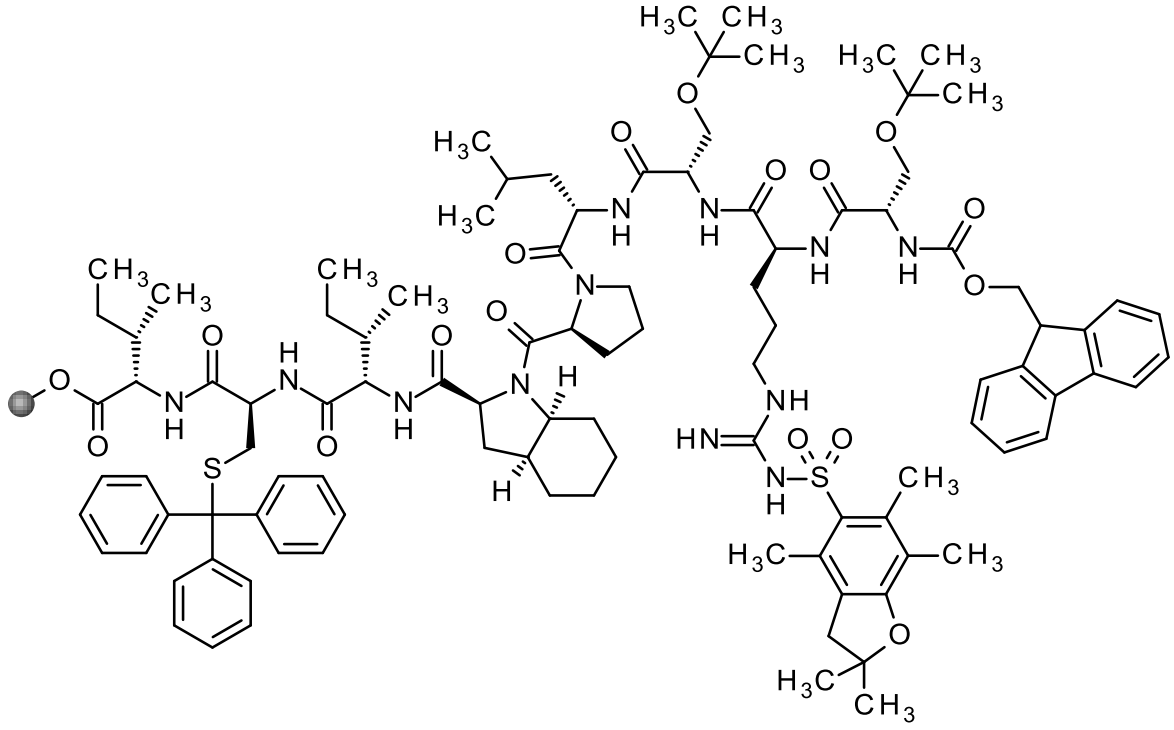
Se expandió el ejemplo, 15A (18,9 g, 8,51 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de N^2-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-N^5-[N-(2,2,4,6,7-pentametil-2,3-dihidro-1-benzofuran-5-sulfonil)carbamimidoil]-L-ornitina (22,1 g, 34,0 mmol) en 50 mL DMF, DIC (5,1 mL, 33 mmol) y oxima (4,72 g, 33,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 17A



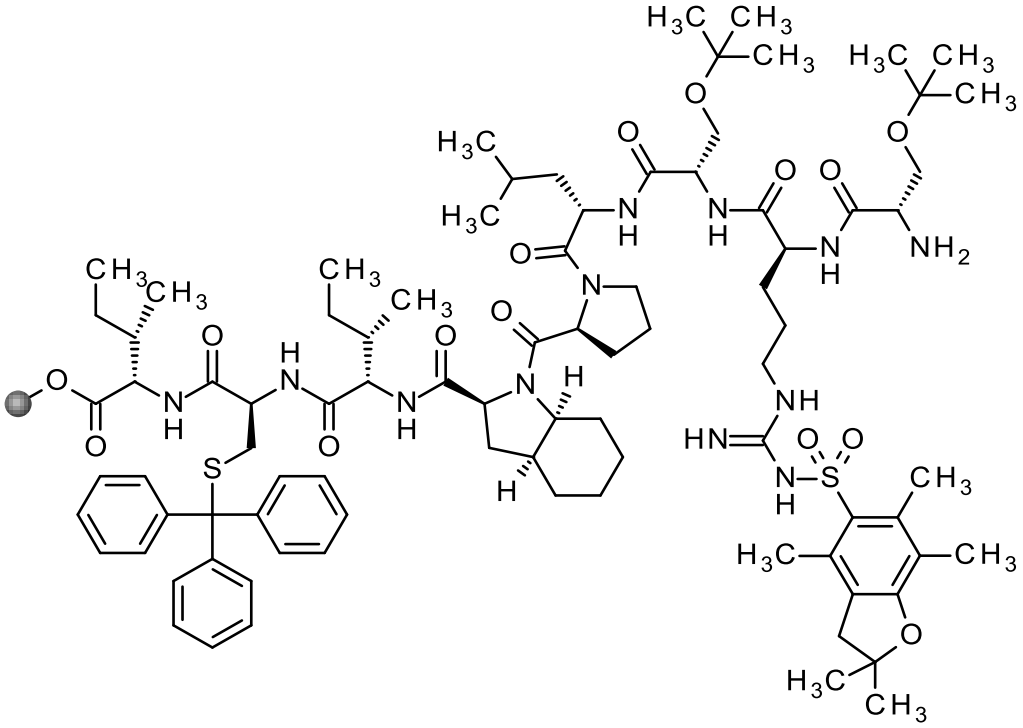
El ejemplo, 16A (23,8 g, 10,7 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 18 A



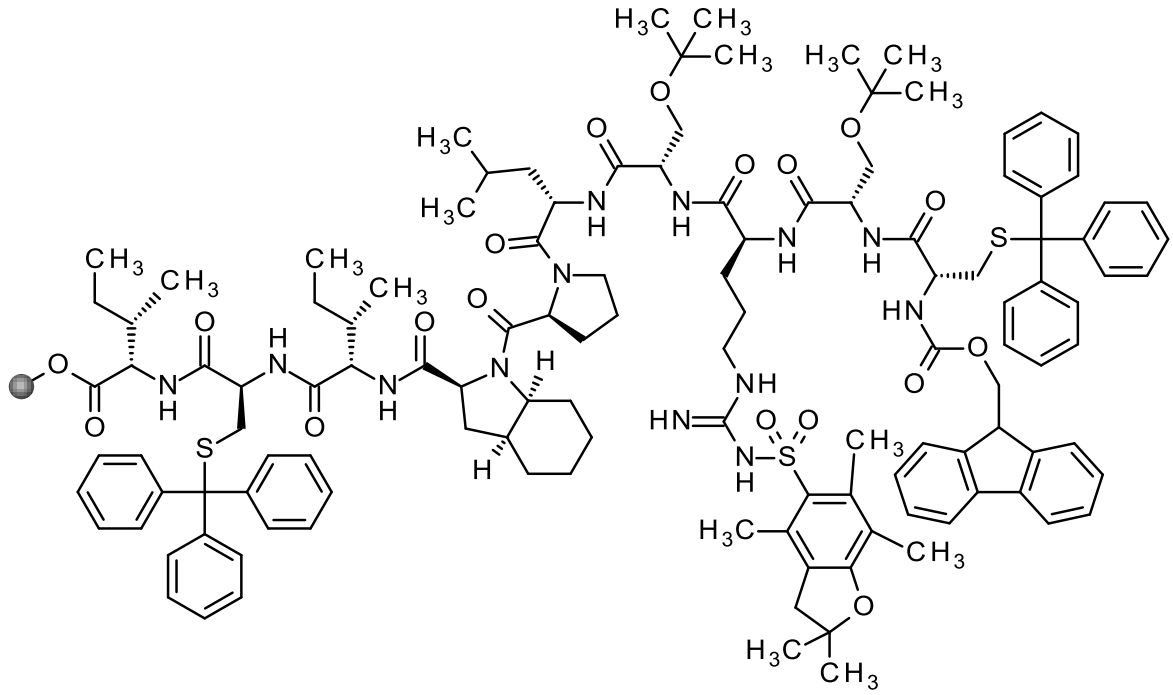
Se expandió el ejemplo, 17A (22,1 g, 9,95 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de O-tert-butil-N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-L-serina (15,3 g, 39,8 mmol) en 50 mL DMF, DIC (6,0 mL, 39 mmol) y oxima (5,51 g, 38,8 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 19 A



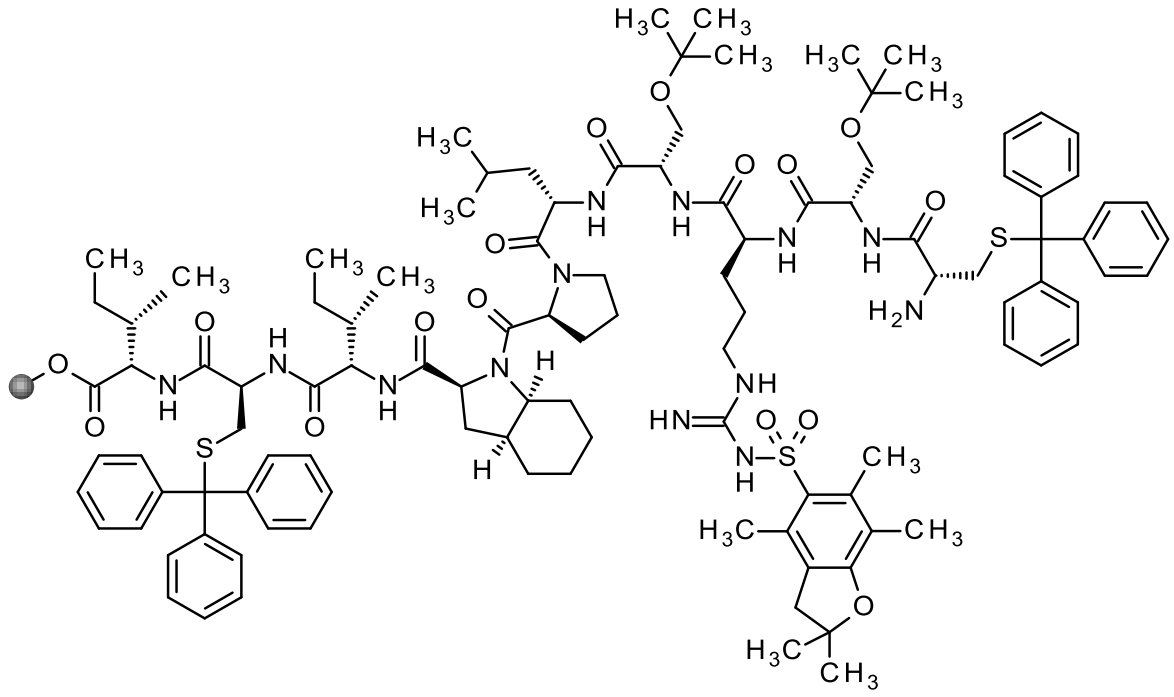
El ejemplo, 18A (24,7 g, 11,1 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 20 A



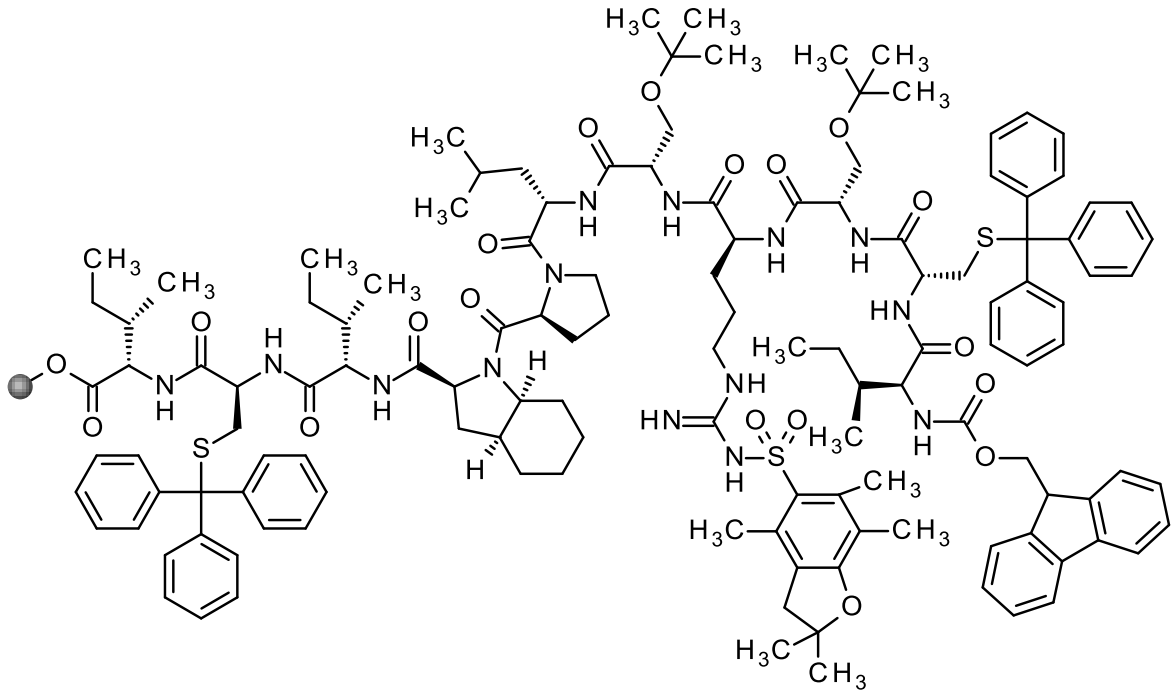
Se expandió el ejemplo, 19A (22,2 g, 9,99 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-S-(trifenilmetil)-L-cisteína (23,4 g, 40,0 mmol) in 50 mL DMF, DIC (6,0 mL, 39 mmol) y oxima (5,54 g, 39,0 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 21 A



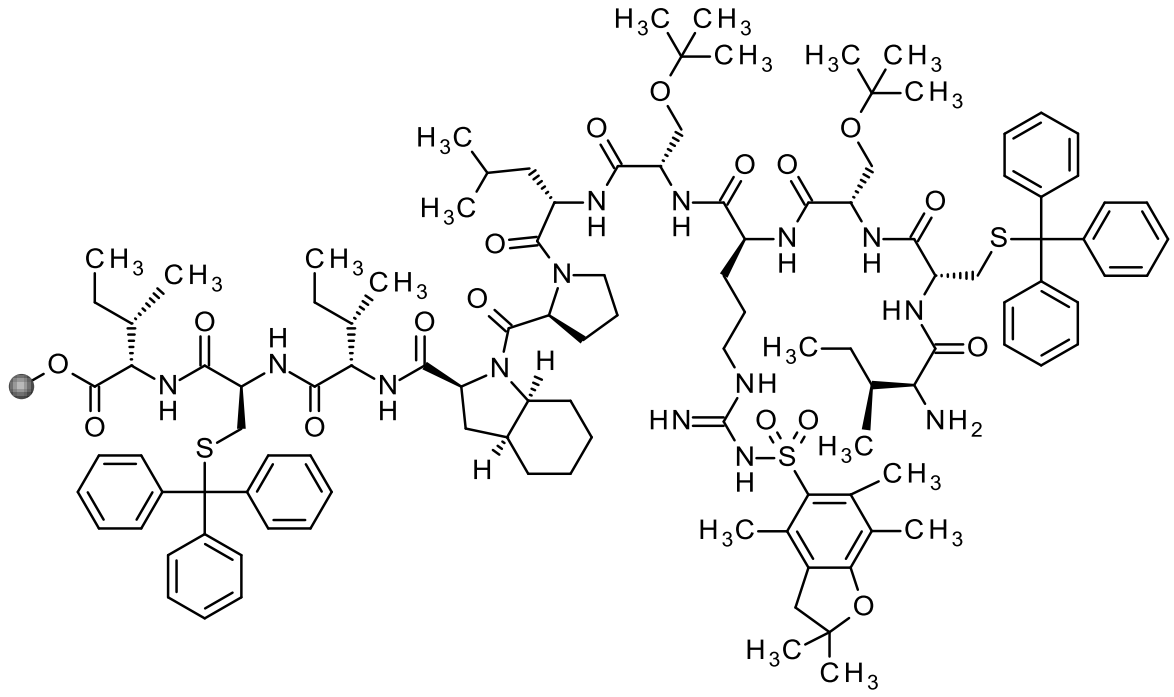
El ejemplo, 20A (24,5 g, 11,0 mmol) en 200 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 22A



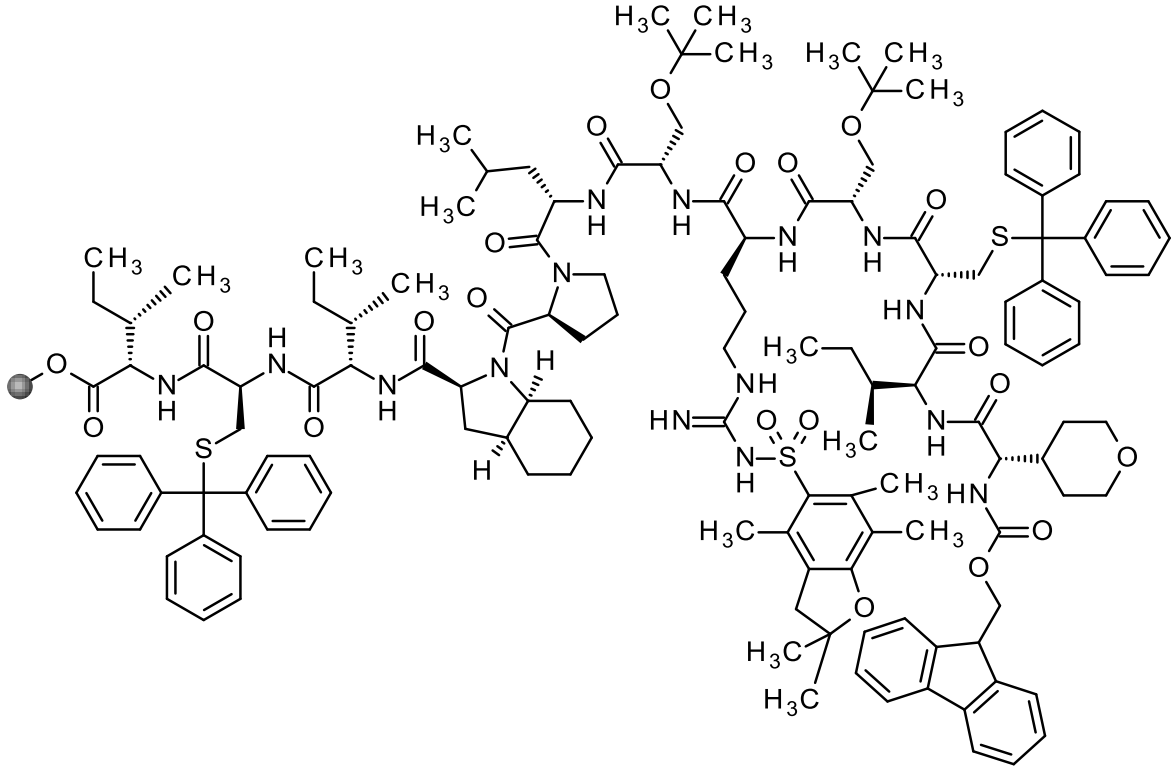
Se expandió el ejemplo, 21A (22,3 g, 10,0 mmol) en 150 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de N-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-L-isoleucina (14,2 g, 40,1 mmol) en 50 mL DMF, DIC (6,0 mL, 39 mmol) y oxima (5,55 g, 39,0 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante el fin de semana a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con 200 mL DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con 200 mL de metanol y 200 mL de diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 23A



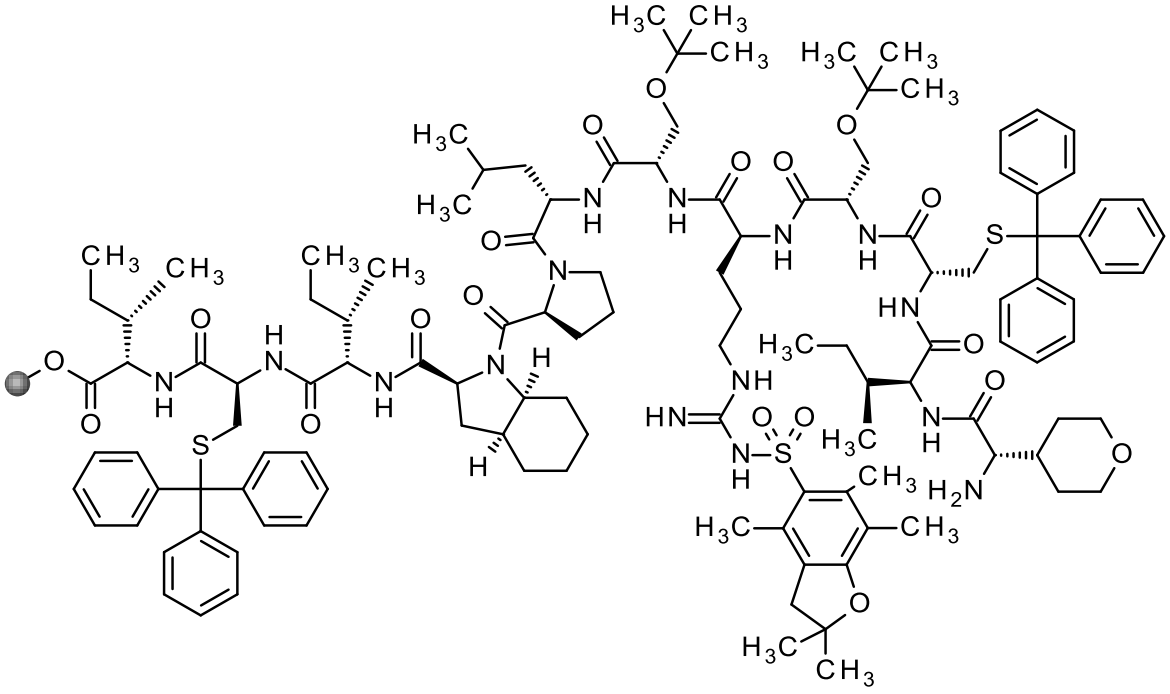
El ejemplo, 22A (1,00 g, 250 µmol) en 7,5 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con metanol y diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 24 A



Se expandió el ejemplo, 23A (1,00 g, 250 µmol) en 5 mL DMF durante 5 min a temperatura ambiente. Se agregó una mezcla de (2S)-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)(oxan-4-il)ácido acético (381 mg, 1,00 mmol) en 1 mL DMF, DIC (150 µL, 980 µmol) y oxima (139 mg, 975 µmol) y la mezcla de reacción se agitó durante el fin de semana a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración, se lavó con DMF tres veces y luego tres veces más en rotación con metanol y diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

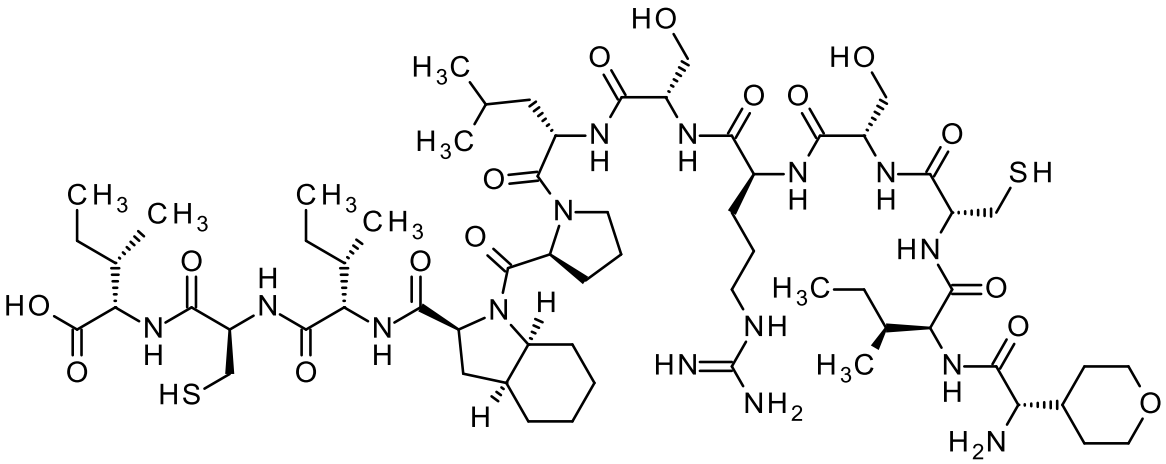
Ejemplo, 25A



El ejemplo, 24A (1,00 g, 250 µmol) en 7,5 mL DMF/piperidina 4:1 se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se recopiló la resina mediante filtración y se lavó con DMF tres veces. Se repitieron los dos pasos y se lavó la resina recopilada tres veces en rotación con metanol y diclorometano. La resina recopilada se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 26A

(2S,3S)-2-{[(2R)-2-{[(2S,3S)-2-{[(2S,3aS,7aS)-1-{(2S)-1-[(2S,5S,8S,11S,14R,17S,20S)-20-amino-17-[(2S)-butan-2-il]-8-(3-carbamimidamidopropil)-5,11-bis(hidroximetil)-2-(2-metilpropil)-20-(oxan-4-il)-4,7,10,13,16,19-hexaoxo-14-(sulfanilmetil)-3,6,9,12,15,18-hexaazaicosanan-1-oil]pirrolidina-2-carbonil}octahidro-1H-indol-2-carbonil]amino}-3-metilpentanoil]amino}-3-sulfanilpropanoil]amino}-3-metilácido pentanoico (estereoisómero único)

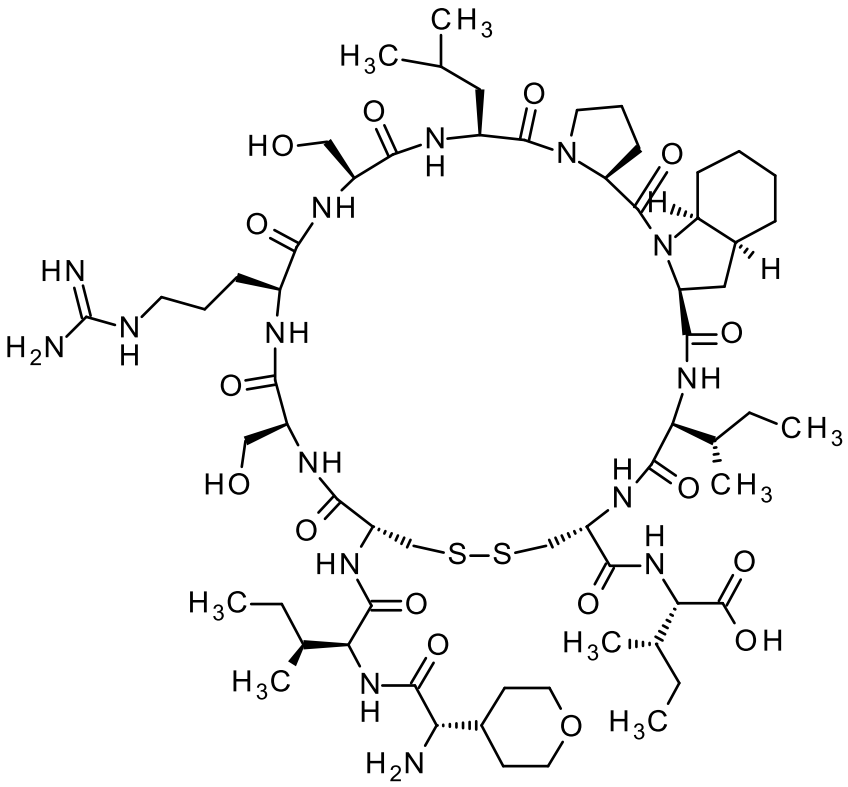


Al ejemplo, 25A (1,00 g, 250 µmol) se agregó la mezcla de escisión de TFA/EDT/tioanisol (90:3:7) y la mezcla se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se recopiló el filtrado y la resina se lavó con diclorometano. El filtrado combinado se evaporó. Se agitó el residuo con éter dietílico y el sólido se recopiló mediante la filtración. El sólido se lavó varias veces con éter dietílico y se secó al vacío para el siguiente paso.

Ejemplo, 184

((2S)-2[(Amino)-2-(tetrahidro-2H-pirano-4-il)]ácido acético)-IC+SRSLP-(Oic)-IC+I-OH (ejemplo, 184)

N-[(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)-18-({N-[(2S)-2-amino-2-(oxan-4-il)acetil]-L-isoleucil}amino)-26-[(2S)-butan-2-il]-12-(3-carbamimidamidopropil)-9,15-bis(hidroximetil)-6-(2-metilpropil)-5,8,11,14,17,25,28,35-octaoxodotriacontahidro-1H,5H,22H-pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10-a]indol-23-carbonil]-L-isoleucina (estereoisómero único)



Al ejemplo, 26A (425 mg, 304 µmol) se agregó 850 mL 0,1 M solución de bicarbonato de amonio acuosa (pH 7,86). Se burbujeó el aire a través de la mezcla de reacción durante 5 min. Se agitó la mezcla de reacción en un matraz abierto durante la noche a temperatura ambiente. Se liofilizaron los solventes para obtener 580 mg de un sólido blanco. La purificación usando una HPLC de fase inversa conforme se describe arriba (método B) proporcionó tres fracciones 7,4 mg (>99%), 24,5 mg (98%) y 15 mg (95%) del ejemplo, 184 deseado.

Método general F: Conversión de las sales TFA del péptido a sales HCl

La síntesis de AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH2 (HCl Salt) (ejemplo, 30) es representativa.

Procedimiento de la estación de intercambio de iones automático:

Bomba peristáltica de la compañía Hirschmann (Rotarus volumen 50), Tubos: Tygon 2001 (ID 0,64 mm)

Configuraciones:

Lavado con H_2O: tiempo de ejecución 1200 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es 35 mL de volumen)

La circulación demuestra con el péptido: tiempo de ejecución 1200 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es 70 mL de volumen)

Lave con H_2O (o %ACN en H_2O: tiempo de ejecución 1200 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es 35 mL de volumen)

Se usó Amberlite IRA 410 (forma HCl). Se colocó 1500 mg de la resina en 2 cartuchos de filtro y se lavó con agua desionizada (10 veces).

El péptido disuelto en 3 mL de una solución 5% ACN/H_2O se cargó en la columna y se cicló a través de la columna 10 veces. Se lavó la columna con agua y la solución se recolectó en un tubo Falcon y se liofilizó.

Se obtuvo 72,83 mg del péptido deseado como la sal de HCl: LC-MS (>99%); análisis de cromatografía de iones: 3,7% en peso Cl- (1,57 eq Cl-) , <1% en peso TFA.

<u>El proceso de intercambio de iones también se puede realizar usando el siguiente protocolo:</u>

Se colocó resina amberlite IRA 410 (forma HCl) (1-2 g) en una jeringa de 10 mL de frita (el péptido de 100 mg necesita 1 g IRA 410 resina)

1) La resina se lava con agua (10 veces × 3 mL)
2) La resina se lava con 5% ACN en agua (1 vez × 3 mL)
3) El péptido se disolvió en 5% ACN en agua
4) Se agregó el péptido a la jeringa y se cicló la solución a través de la columna 10 a 20 veces. El eluyente se recopila en un tubo falcon.
5) La resina se lava con 5%ACN en agua (10 veces × 3 mL); esta solución se agrega a la solución en el tubo falcon
6) Se liofiliza la solución combinada.

Método general FA: Conversión de las sales TFA del péptido a otras sales

Otras formas de sales:

El contra ion de cloruro se puede intercambiar con otros contraiones al pasar una solución de la forma de sal deseada (p. ej. acetato de sodio) forma repetida

a través de la columna, luego se lava la columna de forma repetida con agua. Luego, el péptido se carga y siguen los procedimientos mencionados arriba. Por lo tanto, se han preparado el acetato del péptido, tartrato, citrato y sales del lactato. Los siguientes tres ejemplos son representativos:

Ejemplo, 249

Secuencia: ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2 (sal de acetato) (ejemplo, 249)

N-[(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)-26-[(2S)-butan-2-il]-12-(3-carbamimidamidopropil)-9,15-bis(hidroximetil)-22,22-dimetil-18-[(N-metilglicil-L-isoleucil)amino]-6-(2-metilpropil)-5,8,11,14,17,25,28,35-octaoxodotriacontahidro-1H,5H,22H-pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10-a]indol-23-carbonil]-L-isoleucil-L-prolinamida, sal de ácido acético

Se colocó la resina de cloruro IRA 410 (12 g) en una columna vacía de 20 mL Biotage y la resina se lavó con una solución al 5% de ACN-agua (10 veces). Se adjuntó el cartucho a la estación de intercambio de iones automática. S e lavó la resina con 20 volúmenes de columna de una solución de 1 M NaOH (velocidad de rotación de 2x 1800 s 80 min^{-1}). La columna se lavó con agua hasta que el pH del eluyente fue de <pH 9 (10 volúmenes de columna). La columna luego se eluyó con la solución de ácido acético 1 M (10 volúmenes de columna), luego se lavó con agua hasta que el pH del eluyente fue de >5 (aproximadamente 10 volúmenes de columna). El péptido (N-Me)GIC+SRSLP-(Oic)-I-Pen+IP-NH_2 (sal de TFA) (1200 mg) se cargó en la columna en 12 mL de 5% ACN/agua y se permitió que cicle a través de la columna 10 veces de acuerdo con el método general F. La resina luego se lavó con una solución al 5% de ACN/agua 10 veces y se recopiló el eluyente en los tubos falcones de 50 mL. Las configuraciones del parámetro usadas para esta escala fueron:

Lavado con agua H_2O: tiempo de desarrollo 3085 s; 80 min-1; 1 ciclo (es un volumen de 90 mL)

Circulación de la muestra con péptido: tiempo de desarrollo 3085 s; 80 min-1; 1 ciclo (es un volumen de 180 mL)

Lavado con agua H_2O (o con % ACN en H_2O): tiempo de desarrollo 3085 s; 80 min-1; 1 ciclo (es un volumen de 90 mL)

El eluyente combinado se liofilizó para obtener 1120 mg (100% de pureza, 97% de rendimiento) de la sal de acetato objetivo.

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de cloruro): <1% cloruro

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de TFA): <1% TFA

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de acetato): 7,1% acetato = 1,84 equivalente

LC-MS (MCW-TOF-AQ-YMC-18 min): Rt = 7,74 min; MS (ESIpos): m/z = 725 $[M+2H]^+$

Ejemplo, 264

Secuencia: ((N- Me)G)- IC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IP- NH_2 (sal del ácido L- tartárico) (ejemplo, 264)

Sal del ácido N- [(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)- 26- [(2S)- butan- 2- il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroximetil)- 22,22- dimetil- 18- [(N- metilglicil- L- isoleucil)amino]- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,35- octaoxodotriacontahidro- 1H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- L- prolinamida (2R,3R)- 2,3- dihidroxibutanedioico (ácido L- (+) tartárico)

Se colocó la resina de cloruro IRA 410 (12,5 g) en una columna vacía de 20 mL Biotage y la resina se lavó con una solución al 5% de ACN-agua (10 veces). Se adjuntó el cartucho a la estación de intercambio de iones automática. S e lavó la resina con 20 volúmenes de columna de una solución de 1 M NaOH (velocidad de rotación de 2x 1800 s 80 min^{-1}). La columna se lavó con agua hasta que el pH del eluyente fue de <pH 9 (10 volúmenes de columna). Luego, la columna se eluyó con solución de ácido L- tartárico 1 M (10 volúmenes de columna) y se lavó con agua hasta que el pH del eluyente fuera >5 (aproximadamente 10

volúmenes de columna). El péptido ((N- Me)G)- IC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IP- NH_2 (sal de TFA) (1200 mg) se cargó en la columna en 12 mL de ACN al 5% en agua y se dejó ciclar 10 veces en la columna de acuerdo con el método general F. Luego, la resina se lavó 10 veces con una solución de ACN al 5% en agua y el eluyente se colocó en tubos Falcon de 50 mL Falcon. Las configuraciones del parámetro usadas para esta escala fueron:

Lavado con agua H_2O: tiempo de desarrollo 3085 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es un volumen de 90 mL)

La circulación demuestra con el péptido: tiempo de ejecución 3085 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es 180 mL de volumen)

Lavado con agua H_2O (o con % ACN en H_2O): tiempo de desarrollo 3085 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es un volumen de 90 mL)

El eluyente combinado se liofilizó para obtener 1170 mg (100% de pureza, 91% de rendimiento) de la sal de ácido L-tartárico objetivo.

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de cloruro): <1% cloruro

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de TFA): <1% TFA

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de acetato): 13,4% acetato = 1,49 equivalente

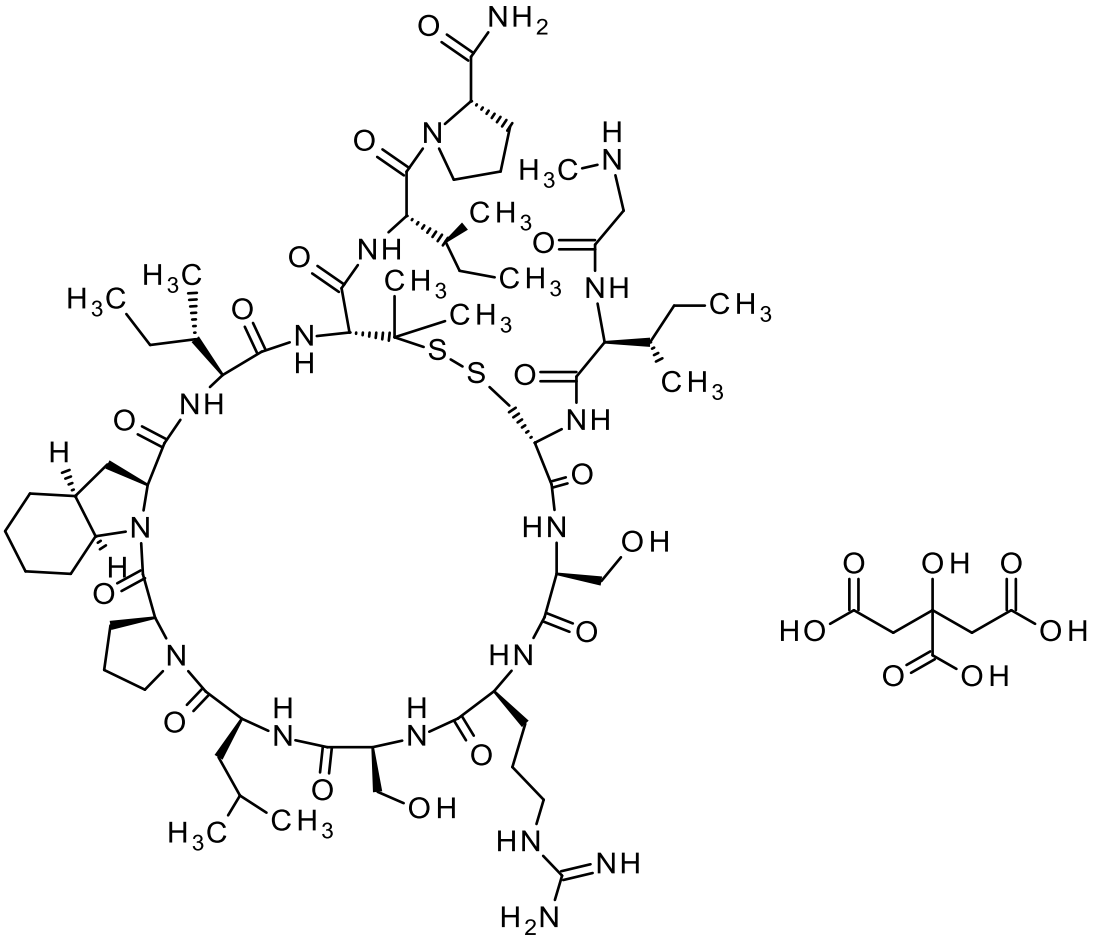
LC-MS (MCW-TOF-AQ-YMC-18 min): Rt = 7,62 min; MS (ESIpos): m/z = 725 $[M+2H]^+$

Ejemplo, 376

Secuencia: ((N- Me)G)- IC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IP- NH_2 (sal de ácido cítrico) (ejemplo, 376)

Sal del ácido N- [(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)- 26- [(2S)- butan- 2- il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroximetil)- 22,22- dimetil- 18- [(N- metilglicil- L- isoleucil)amino]- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,35- octaoxodotriacontahidro- 1H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20

,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- L - prolinamida, 2- hidroxipropano- 1,2,3- tricarboxílico (ácido cítrico)



Se colocó resina de cloruro IRA 410 (26 g) en una columna Biotage vacía de 20 mL y se la lavó con una solución de ACN al 5% en agua (10 veces). Se adjuntó el cartucho a la estación de intercambio de iones automática. S e lavó la resina con 20 volúmenes de columna de una solución de 1 M NaOH (velocidad de rotación de 2x 1800 s 80 min^{-1}). La columna se lavó con agua hasta que el pH del eluyente fue de <pH 9 (10 volúmenes de columna). Luego, la columna se eluyó con solución de ácido cítrico 1 M (10 volúmenes de columna) y se lavó con agua hasta que el pH del eluyente fuera >5 (aproximadamente 10 volúmenes de columna). El péptido (N-Me)GIC+SRSLP-(Oic)-I-Pen+IP-NH_2 (sal de

TFA) (1200 mg) se cargó en la columna en 12 mL de 5% ACN/agua y se permitió que cicle a través de la columna 10 veces de acuerdo con el método general F. La resina luego se lavó con una solución al 5% de ACN/agua 10 veces y se recopiló el eluyente en los tubos falcones de 50 mL. Las configuraciones del parámetro usadas para esta escala fueron:

Lavado con H_2O: tiempo de ejecución 3085 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es 90 mL de volumen)

La circulación demuestra con el péptido: tiempo de ejecución 3085 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es 180 mL de volumen)

Lave con H_2O (o %ACN en H_2O: tiempo de ejecución 3085 s; 80 min^{-1}; 1 ciclo (es 90 mL de volumen)

El eluyente combinado se liofilizó para obtener 1370 mg (100 % de pureza, 97 % de rendimiento) de la sal de ácido L-tartárico objetivo.

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de cloruro): <1% cloruro

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de TFA): <1% TFA

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de acetato): 19,0% acetato = 1,77 equivalente

LC-MS (MCW-TOF-AQ-YMC-18 min): Rt = 7,6 min; MS (ESIpos): m/z = 725 $[M+2H]^+$

Los expertos en la técnica reconocerán que, aunque la estequiometría mediante cromatografía de intercambio iónico no siempre sea estequiométrica (p. ej., 1:2 o 1:1), no se ha tenido en cuenta el contenido de agua, el que en algunos casos en los que se lo midió, puede estar entre el 8 y el 15%.

Método general G: Preparación de una forma sin sal

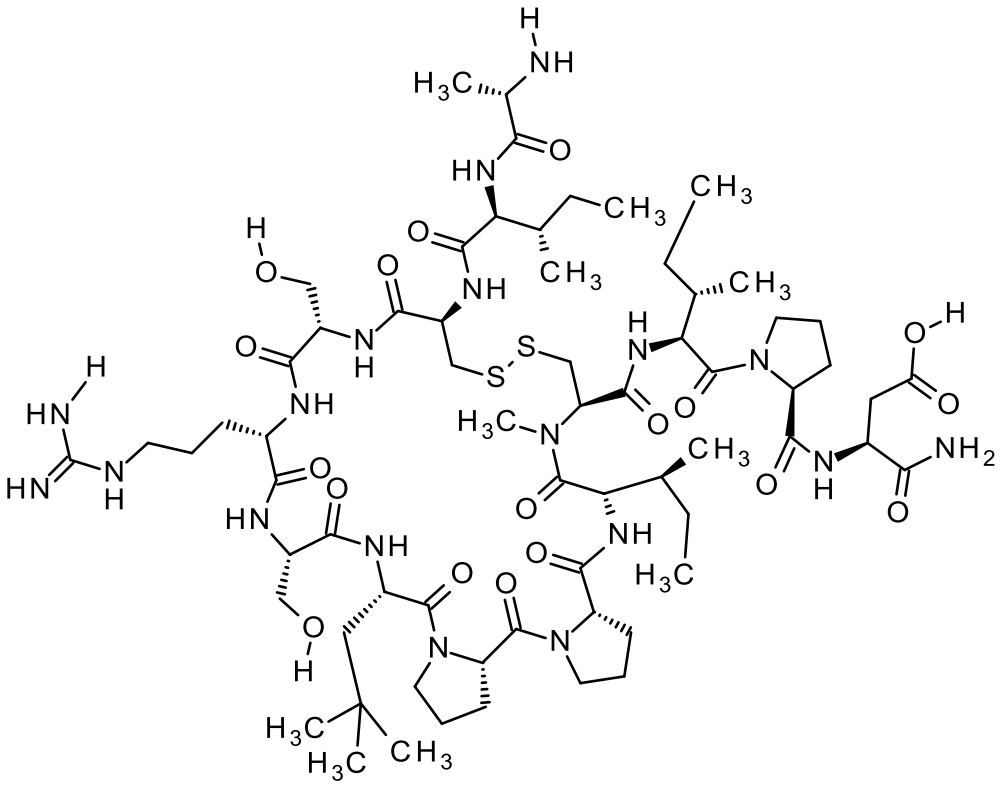
La preparación de AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2 (forma sin sal) (ejemplo, 27) es representativa.

5 gramos de la sal TFA (ejemplo, 75) se purificaron mediante HPLC de fase inversa usando un gradiente acetonitrilo/agua a 70 ^oC sin modificador ácido. Las fracciones deseadas se combinaron y liofilizaron. Se obtuvieron 2,2 g de la

forma sin sal (ejemplo, 27); LC-MS (>99% pureza); cromatografía de intercambio iónico (<1% TFA)

Método general H: Síntesis a gran escala

La síntesis de AIC+SRS- ((tBu)A)- PPI- ((N- Me)C)+IPD- NH_2 (ejemplo, 48) es representativa.



Se sintetizó el péptido usando la química estándar de Fmoc.

1) Se agregó DMF al recipiente que contenía resina MBHA (180 mmol). Se dejó que la resina se hinchara durante 2 horas.
2) Se agregó el conector de amidas Fmoc-Rink y se mezcló durante 30 segundos, luego se agregó el tampón de activación. El mezclado se llevó a cabo por burbujeo de N_2 durante aproximadamente 1 hora.
3) Se dejó drenar la solución de la resina y esta se lavó con DMF (30 segundos, 3 veces).

4) Se agregó una solución de piperidina al 20% en DMF y se mezcló con burbujeo de nitrógeno durante 30 minutos.
5) Se dejó drenar la solución y la resina se lavó con DMF (5 veces).
6) Se agregó la solución Fmoc-aminoácido y se mezcló durante 30 segundos, luego se agregó el tampón de activación. El mezclado se llevó a cabo por burbujeo de N_2 durante aproximadamente 1 hora.
7) Se repitieron los pasos 3 a 6 para cada acoplamiento de aminoácidos.

Tabla 10: Nota de los materiales usados y las condiciones

N.º	**Materiales**	**Reactivos de acoplamiento**	**Tiempo de acoplamiento**
1	Fmoc- Asp(OtBu)- OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
2	Fmoc- Pro- OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
3	Fmoc- Ile- OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
4	Fmoc- NMe- Cys(Trt)- OH	HATU (2,0 eq) y DIEA (4,0 equiv.)	1 h
5	Fmoc- Ile- OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
6	Fmoc- Pro- OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
7	Fmoc- Pro- OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
8	Fmoc- tBuAla- OH	HATU (2,0 eq) y DIEA (4,0 equiv.)	1 h
9	Fmoc- Ser(tBu)- OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h

10	Fmoc‑ Arg(pbf)‑ OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
11	Fmoc‑ Ser(tBu)‑ OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
12	Fmoc‑ Cys(Trt)‑ OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
13	Fmoc‑ Ile‑ OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h
14	Fmoc‑ Ala‑ OH	HBTU (3,0 eq) y DIEA (6,0 equiv.)	1 h

Se usó una solución de piperidina al 20% en DMF durante 30 minutos para la desprotección del grupo protector fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc). La reacción de acoplamiento se controló mediante la prueba de ninhidrina y la resina se lavó 5 veces con DMF.

Escisión y purificación del péptido:

1) Se agregó el tampón de escisión (92,5% TFA: 2,5% EDT: 2,5% TIS: 2,5% H_2O) al matraz que contenía al péptido protegido de cadena lateral a temperatura ambiente y la mezcla se agitó durante 2 horas.
2) Se hizo precipitar al péptido con isopropil éter frío y se lo centrifugó (2 minutos a 5000 rpm).
3) El péptido se lavó dos veces más con isopropil éter.
4) El péptido crudo se secó al vacío durante 2 horas.

Formación de disulfuro

A una solución del péptido lineal crudo (15 g, 9,92 mmol, 1,0 eq) (20 lotes) in H_2O/I (3 L 2:1) se le agregó NH_4HCO_3 (7,84 g, 99,2 mmol, 10 eq). La mezcla se agitó a 30 °C durante 16 h, se desactivó con el agregado de HCl hasta pH ~6 y se liofilizó. El liofilizado se purificó mediante HPLC preparativa para obtener el

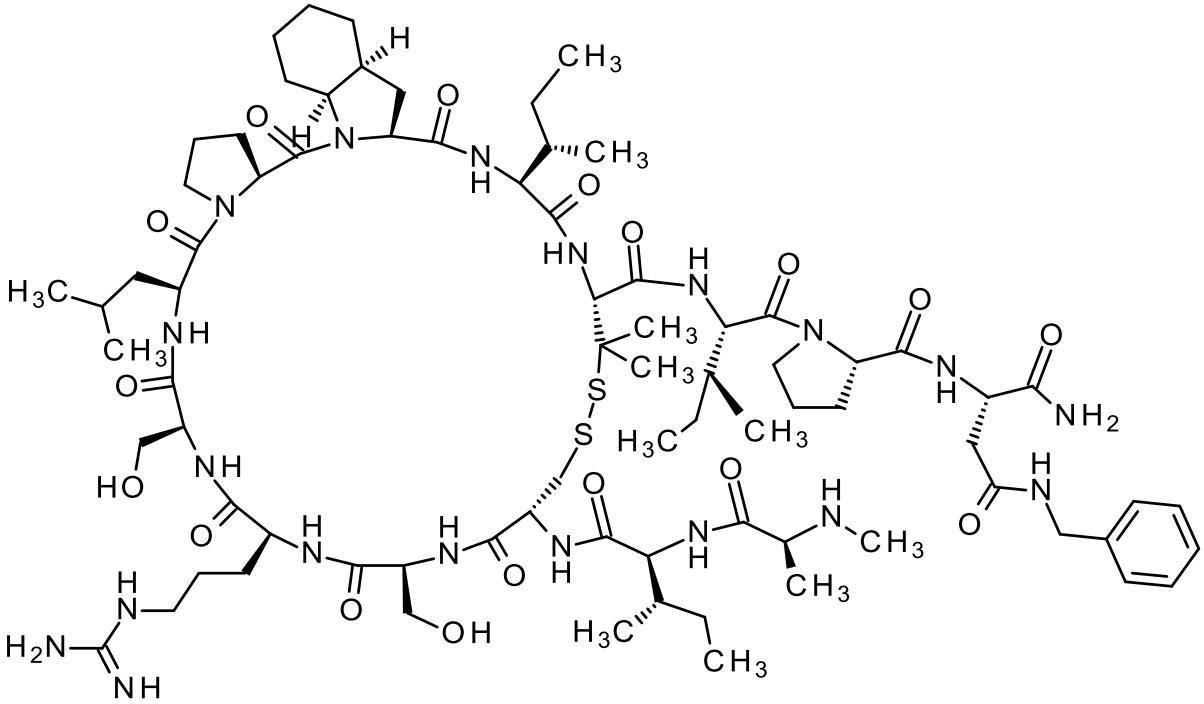
ejemplo, 48 deseado (41,8 g, 95,8%, 13,3% de rendimiento) como un sólido blanco, 156,8 g en total.

Condiciones de purificación

Equipo: Shimadzu 10A; el péptido se disolvió en DMF/H_2O. Fase móvil: , A (H_2O (0,075% TFA en H_2O), B EtOH; gradiente: 10-50%-60 minutos, tiempo de retención: 47 minutos; columna: Luna, C18, 10 □m, 100A, 25 cm x 50 mm; caudal: 80 mL/min; longitud de onda: 220/254 nm; temp. del horno: temperatura ambiente.

Método I: Preparación de ((N- Me)A)- IC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IP- ((N- bencil)D)- NH_2 (ejemplo, 462)

N- [(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)- 26- [(2S)- butan- 2- il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroximetil)- 22,22- dimetil- 18- [(N- metil- L- alanil- L- isoleucil)amino]- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,35- octaoxodotriacontahidro- 1H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- L- prolil- N^4- bencil- L- aspartamida

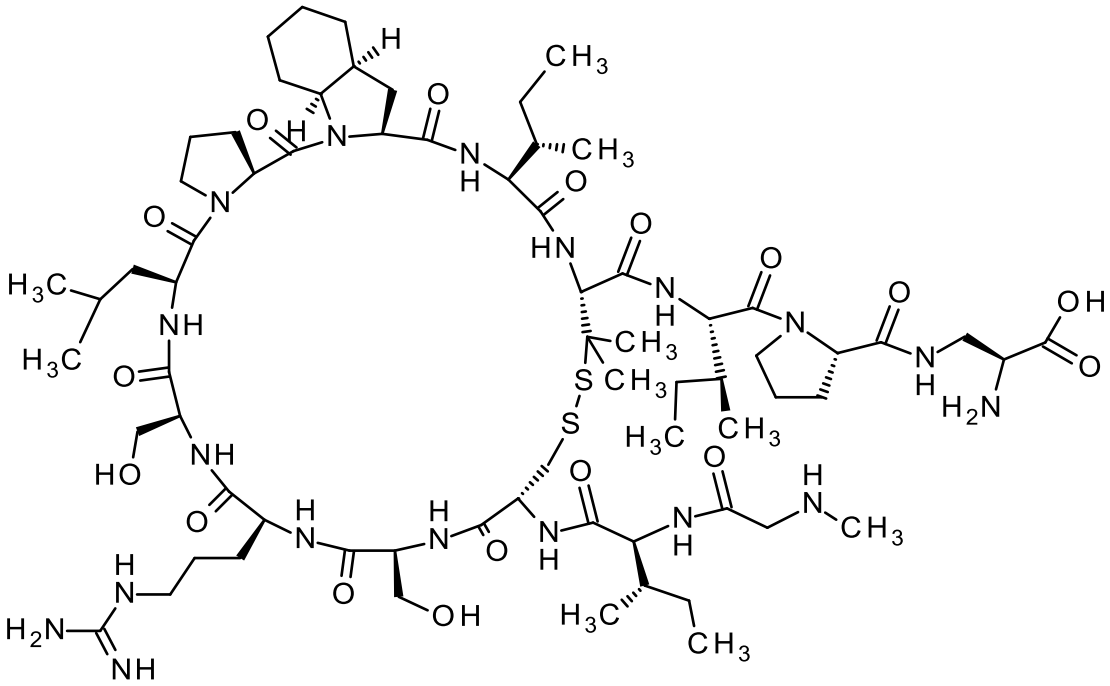


El péptido se preparó en una resina MBHA Rink-amida (con una carga típica aproximada de 0,4-0,6 mmol/g) a una escala de 0,3 mmol. El primer aminoácido Fmoc- Asp(2- fenilisopropiléster)- OH (CAS 200336-86-3) se agregó a la resina mediante el método descrito en el Método C. La secuencia de péptidos se construyó mediante los pasos descritos en el Método C. Una vez completada la secuencia, se eliminó el grupo protector 2- OPP usando TFA al 1% en DCM, 30 minutos. Se agregó N-bencilamina (3 eq), DCI (3 eq) y oxima (3 eq) y la mezcla se agitó vigorosamente durante 2 horas. El péptido se escindió, se formó el enlace disulfuro y el péptido se purificó de acuerdo con el Método C.

Método general J. Preparación de ((N- Me)G)- IC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IP- (*Dap)- OH (ejemplo, 467)

N- [(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)- 26- [(2S)- butan- 2 - il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroximetil)- 22,22- dimetil- 1 8- [(N- metilglicil- L- isoleucil)amino]- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,3

5- octaoxodotriacontahidro- 1H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- N- [(2S)- 2- amino- 2- carboxietil]- L- prolinamida

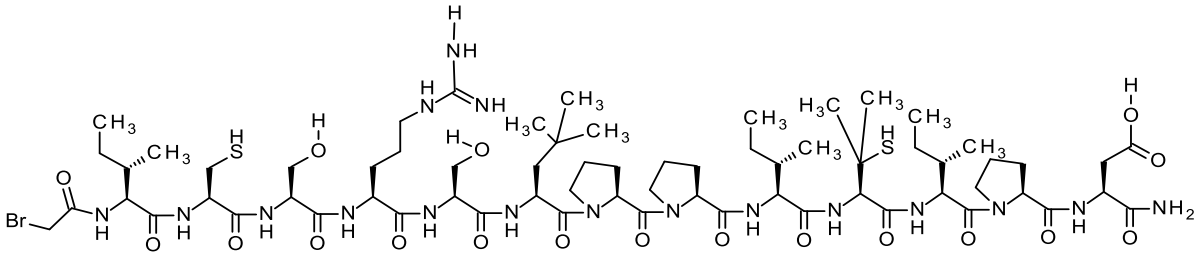


El péptido se preparó en resina 2- clorotritil de acuerdo con el Método C. Se agregó BOC-Dap(Fmoc)-OH (CAS 122235-70-5) a la resina de acuerdo con el Método C. El péptido se construyó y purificó de acuerdo con el Método C.

Método general K. Preparación de (2-(morfolin)acetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH2 (ejemplo, 283)

Ejemplo, 27A

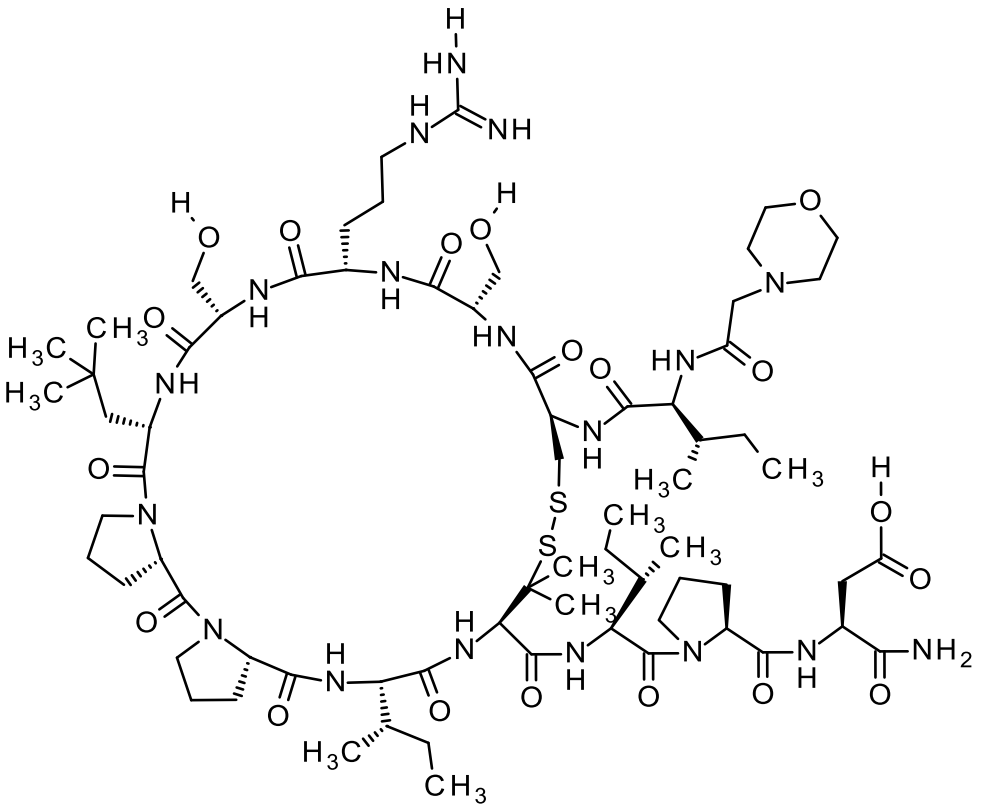
N- (bromoacetil)- L- isoleucil- L- cisteinil- L- seril- L- arginil- L- seril- 4- metil - L- leucil- L- prolil- L- prolil- L- isoleucil- 3- sulfanil- L- valil- L- isoleucil- L- prolil- L- alfa- asparagina



La secuencia IC+SRS- ((tBu)A)- PPI- (Pen)+IPD- NH2 se preparó 12 veces en una resina Rinkamide ChemMatrix a escala 0,1 mmol de acuerdo con el Método A. Al péptido que contenía resina (200 mg, 100 µmol) se le agregó N,N'- diisopropilcarbodiimida (31 µL, 200 µmol), etil(hidroxiimino)cianoacetato (28,4 mg, 200 µmol) y ácido bromoacético (14 µL, 200 µmol). La mezcla se agitó vigorosamente durante toda una noche en 5 mL DMF a temperatura ambiente en un agitador termomezclador. La resina se filtró, se lavó con DMF (5 mL, 6 veces), se lavó con DCM (5 mL, 6 veces) y luego se secó al vacío para el paso siguiente.

Ejemplo, 283

N- [(5aS,11S,14S,17S,20S,23R,28R,31S,33aS)- 31- [(2S)- butan- 2- il]- 17- (3- carbamimidamidopropil)- 11- (2,2- dimetilpropil)- 14,20- bis(hidroximetil)- 2 7,27- dimetil- 23- ({N- [(morfolin- 4- il)acetil]- L- isoleucil}amino)- 5,10,13,16,1 9,22,30,33- octaoxooctacosahidro- 1H,5H,10H- dipirrolo[2,1- j:2',1'- m][1,2,5,8, 11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino- 28- carbonil]- L- isoleucil- L- p rolil- L- alfa- asparagina



Al ejemplo, 27a (200 mg, 74% pureza, 77,7 µmol) en NMP (10 mL) se le agregó morfolina (34 µl, 390 µmol) y la suspensión se agitó vigorosamente a 37 °C en un termomezclador. La resina sólida se recolectó por filtración, se lavó con 10 mL DMF y 10 mL de diclorometano, dos veces cada uno. El residuo se trató con TFA/EDT/tioanisol (90:3:7) y se agitó vigorosamente 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se trató con dietiléter frío (-10 ^{o}C) y la suspensión se centrifugó en atmósfera de nitrógeno y se lavó tres veces (3 x 30 mL) con dietiléter frío. Al residuo se le agregó una solución acuosa de bicarbonato de amonio 0,1 M (400 mL) y la mezcla reactiva se agitó vigorosamente toda una noche en un balón de destilación sin tapar. La solución se liofilizó y el polvo liofilizado se purificó de acuerdo con el Método A para obtener 20,4 mg (98% pureza, 16% rendimiento) del ejemplo, 283.

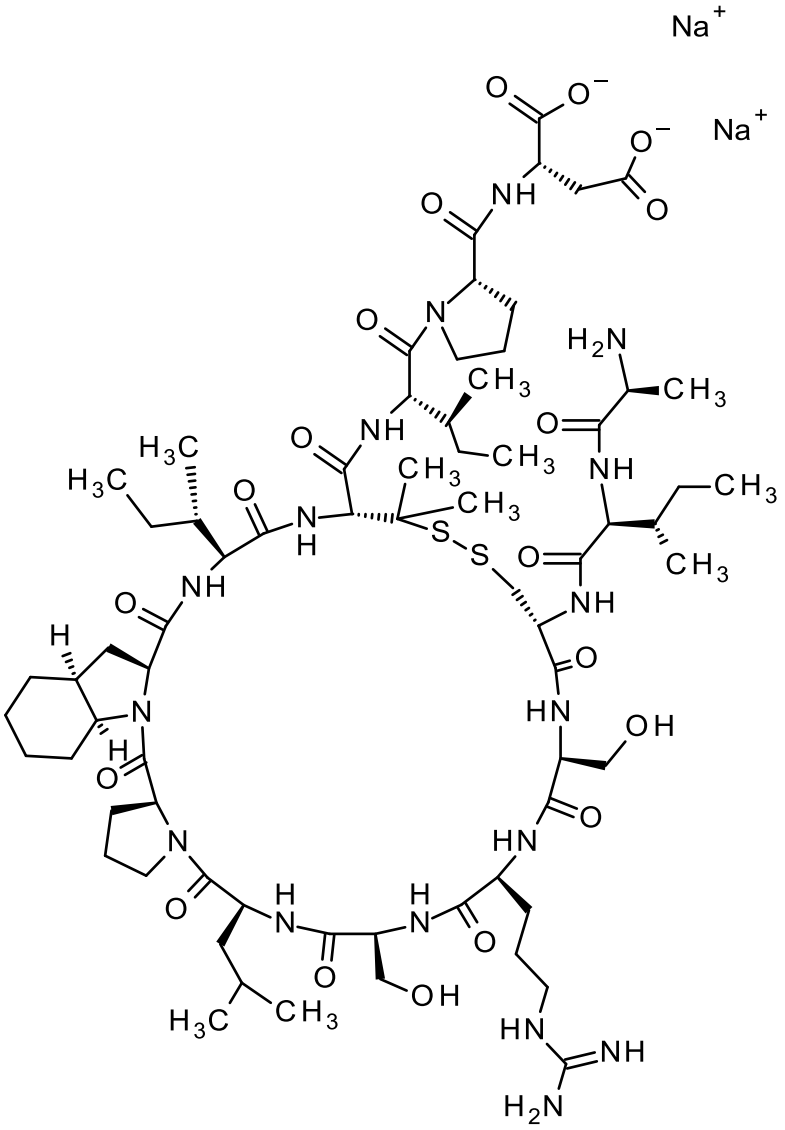
El ejemplo, 300 (2- hidroxiacetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2 se aisló como subproducto.

Método general L. Preparación de formas de sales de sodio y colina

Estas sales se prepararon a partir de formas sin sal de los péptidos. Los dos ejemplos a continuación son representativos del método general:

Ejemplo, 431

N- [(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)- 18- [(L- alanil- L- isoleu-
cil)amino]- 26- [(2S)- butan- 2- il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroxime-
til)- 22,22- dimetil- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,35- octaoxodotriacontahi-
dro- 1H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononaco-
sino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- N- [(1S)- 1,2- dicarboxilatoetil]- L- prolinamida, sal sódica



Secuencia: AIC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IPD- OH (sal sódica) (ejemplo, 431)

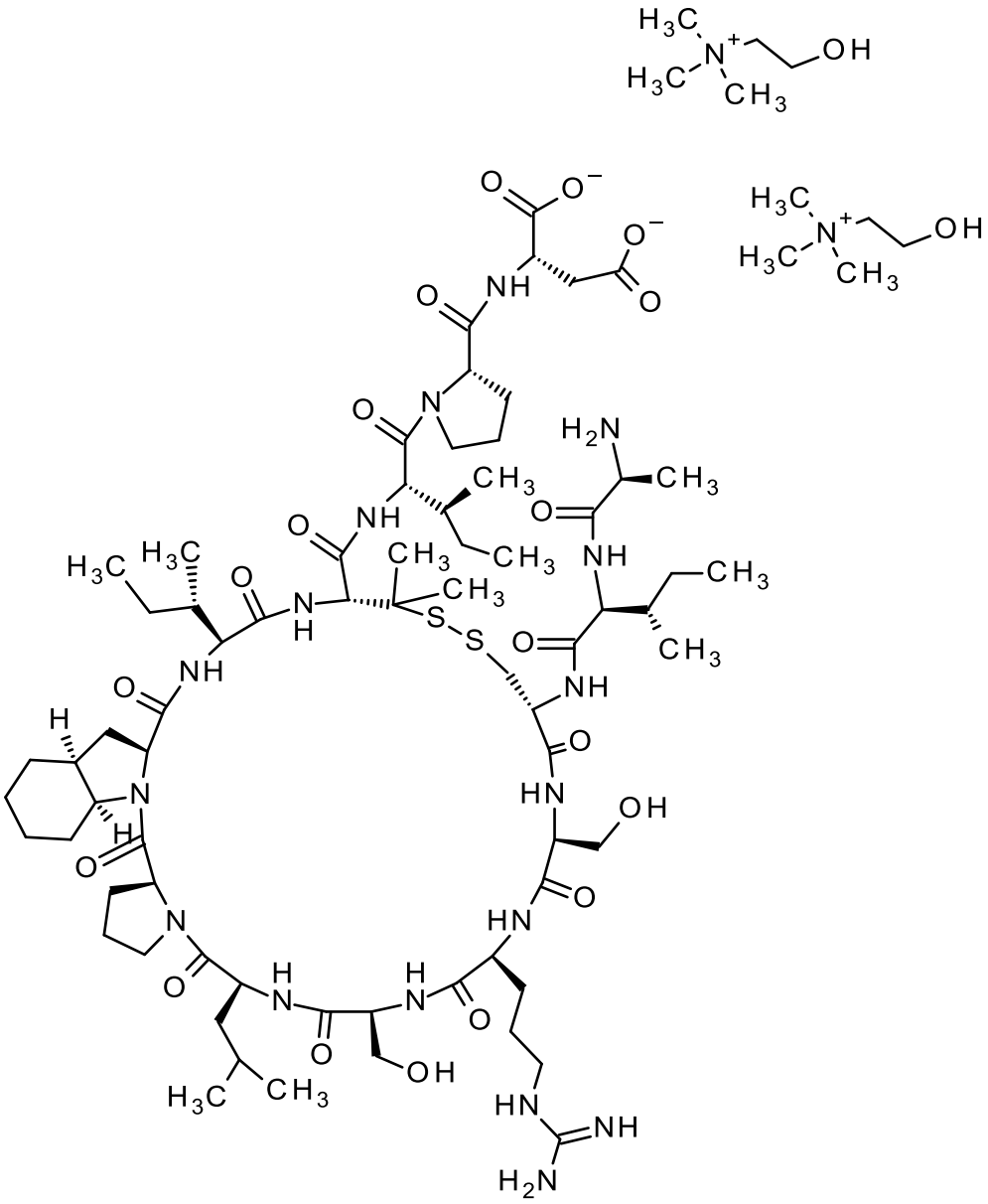
A una solución de AIC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IPD- OH (forma sin sal) (100 mg) en 20 mL acetonitrilo/agua 1:1 se le agregaron 1,3 mL de una solución de hidróxido de sodio 0,1 M. La mezcla se secó al vacío para obtener 109 mg (104% rendimiento, 99% pureza) del compuesto objetivo.

LC-MS (MCW-TOF-AQ-YMC-18 min): R_t = 8,62 minutos; MS (ESIpos): m/z = 783 [M+2H]2+

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de sodio): 2,9% sodio = 2,03 eq

Ejemplo, 432

N- [(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,29aS,33aS,35aS)- 18- [(L- alanil- L- isoleucil)amino]- 26- [(2S)- butan- 2- il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroximetil)- 22,22- dimetil- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,35- octaoxodotriacontahidro- 1H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- N- [(1S)- 1,2- dicarboxilatoetil]- L- prolinamida, sal de 2- hidroxi- N,N,N- trimetiletan- 1- amonio) (colina)



A una solución de AIC+SRSLP‑(Oic)‑I‑(Pen)+IPD‑OH (forma sin sal) (100 mg) en 20 mL acetonitrilo/agua 1:1 se le agregaron 511 □L de una solución de hidróxido de colina 0,25 M. La mezcla se secó al vacío para obtener 122 mg (105% rendimiento, 99% pureza) del compuesto objetivo.

LC-MS (MCW-TOF-AQ-YMC-18 min): R_t = 8,65 minutos; MS (ESIpos): m/z = 783 [M+2H]2+

Cromatografía de intercambio iónico (contenido de colina): 11,7% colina = 1,97 eq

Ejemplo, 13

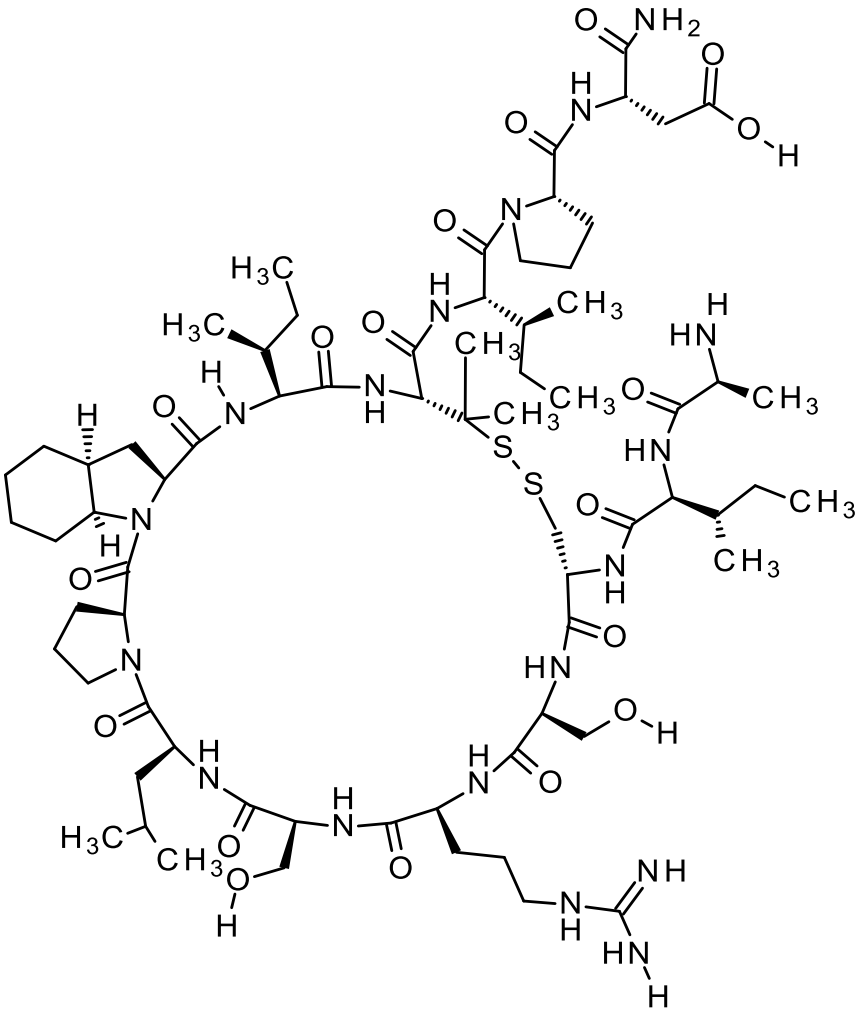
AIC+SRSLP- (Oic)- I- (Pen)+IPD- OH (ejemplo, 13)

ácido

(3S)- 4- amino- 3- ({(2S)- 1- [(2S,3S)- 2- {[(2R)- 2- {[(2S,3S)- 2- {[(2S,3aS,7aS)- 1- {(2S)- 1- [(2S,5S,8S,11S,14R,17S,20S)- 20- amino- 17- [(2S)- butan- 2- il]- 8- (3- carbamimidamidopropil)- 5,11- bis(hidroximetil)- 2- (2- metilpropil)- 4,7,10,13,16,19- hexaoxo- 14- (sulfanilmetil)- 3,6,9,12,15,18- hexaazahenicosa-

nan- 1- oil]pirrolidin- 2- carbonil}octahidro- 1H- indoe- 2- carbonil]amino}- 3- metilpenta-

noil]amino}- 3- metil- 3- sulfanilbutanoil]amino}- 3- metilpentanoil]pirrolidin- 2- carbonil}amino)- 4- oxobutanoico



Síntesis del péptido

Se sintetizó el péptido usando la química estándar de Fmoc.

1) Preparación de la resina: a la resina CTC (15,0 mmol, 15,0 g, 1,0 mmol/g) se le agregó Fmoc-Asp(OtBu)-OH (15,0 mmol, 6,17 g, 1,0 eq) y DIEA (10,4 mL, 60,0 mmol, 4,0 eq) en DCM (300 mL). La mezcla se agitó en atmósfera de N_2 durante 2 horas a 20 °C. Luego, se agregó metanol (15,0 mL) y la resina se agitó en atmósfera de N_2 durante otros 30 minutos. La resina se lavó con DMF (300 mL, 3 veces). Luego, se agregó una solución de piperidina al 20% en DMF (300 mL) y la

mezcla se agitó en atmósfera de N_2 durante 20 minutos a 20 °C. A continuación, se filtró la mezcla para obtener la resina. La resina se lavó con DMF, (300 mL, 3 veces) y se filtró para obtener la resina.

2) Acoplamiento: Se agregó Fmoc-Pro-OH (15,2 g, 45,0 mmol, 3,0 equiv.), HBTU (16,2 g, 42,8 mmol, 2,85 equiv.) y DIEA (90,0 mmol, 15,6 mL, 6,00 equiv.) en DMF (100 mL) a la resina y se agitó en atmósfera de N_2 durante 30 minutos a 20 °C. Luego, la resina se lavó con DMF (300 mL x 5).

3) Desprotección: Se agregó 20% de piperidina en DMF (300 mL) a la resina y la mezcla se agitó con N_2 durante 20 min a 20 °C.

4) Se repitieron los pasos 2 a 3 para todos los demás aminoácidos:

Tabla 11: Reactivos usados en el ejemplo, 13

N.º	**Materiales**	**Reactivos de acoplamiento**	**Tiempo de acoplamiento**	**Proveedor**
1	Fmoc‑Asp(OtBu)‑OH (1,0 eq)	DIEA (4,0 eq)	2,0 h	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
2	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
3	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
4	Fmoc-Pen(Trt)-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
5	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
6	Fmoc-Oic-OH (3,0 eq)	HBTU	30 min	GL Biochem

		(2,85 eq) DIEA (6,0 eq)		(Shanghai) Ltd.
7	Fmoc-Pro-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
8	Fmoc-Leu-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
9	Fmoc-Ser(tBu)-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
10	Fmoc-Arg(Pbf)-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	Chengdu Ami-notp Pharmaceu-tical Technology Ltd.
11	Fmoc-Ser(tBu)-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
12	Fmoc-Cys(Trt)-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
13	Fmoc-Ile-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.
14	Fmoc-Ala-OH (3,0 eq)	HBTU (2,85 eq) DIEA (6,0 eq)	30 min	GL Biochem (Shanghai) Ltd.

Se usó 20% de piperidina en DMF para la desprotección de Fmoc durante 30 min. La reacción del acoplamiento se monitoreó por ninhidrina (todos los aminoácidos excepto Pro) y prueba de cloranil (Pro) y la resina se lavó con DMF (300 mL) 5 veces.

Proveedor de HBTU y DIEA：Suzhou Highfine Biotech Co., Ltd.

Escisión y purificación del péptido

5） La resina se lavó con MeOH, (300 mL, 5 veces) y se secó al vacío para obtener 41,5 g de la resina del péptido. Luego se agregaron 400 mL del tampón de escisión (92,5% TFA/2, 5% ácido 3-mercaptopropiónico/2,5% TIS/2,5% H_2O) al matraz que contenía la resina del péptido protegido de cadena lateral a 20 °C, la mezcla se agitó durante 2,5 horas y por último se filtró.

6） Se hizo precipitar al péptido con terbutil metil éter frío (4.000 mL) y se lo centrifugó (3 minutos a 3.000 rpm) para obtener el péptido sólido crudo. El precipitado de péptido crudo se lavó con terbutil metil éter tres veces más (1.000 mL x 3). El péptido crudo se secó al vacío durante 2,0 horas y se obtuvieron 21,8 g.

7） El péptido crudo (21,8 g) se disolvió en CH_3CN (6,5 L) y agua (6,5 L). Se agregó I_2 (0,1 M en MeOH, 55 mL) a 20 °C hasta lograr un color amarillo persistente. Luego se agitó la mezcla a 20 °C durante 2 minutos; se agregó solución de tiosulfato de sodio (0,1 M en agua, 15 mL) gota a gota hasta desaparición del color amarillo. Por último, la mezcla se liofilizó para obtener el polvo crudo (22,7 g).

8） La purificación del péptido crudo mediante HPLC preparativa (condición: A: 0,075% TFA en agua B: CH_3CN), la recolección de las fracciones que contenían producto y la liofilización permitieron obtener el péptido objetivo (ID de secuencia 13); (4305,1 mg, 18,3% rendimiento, 99,1% en columna RP-HPLC 110 Å C18 [Gemini C18 5 □m, 110 Å, 150 x 4,6 mm]; 97,8% en columna RP-HPLC 300 Å C18 [Discovery BIO

Wide Pore C18 5 □m, 300 Å 150 x 4,6 mm), sal de TFA) como un sólido blanco.

Tabla 12: Condiciones de purificación

Condición de purificación	
Condición de disolución	TFA/H_2O = 7/3
Instrumento	Gilson GX-281
Fase móvil	A: H_2O (A:0,075% TFA en H_2O, B: ACN)
	B: CH_3CN
Gradiente	13-43%-60 minutos Tiempo de retención: 40 min
Columna	Luna 25 x 200 mm, C18 10 □m, 110 Å + Gemini 150 x 30 mm, C18 5 □m, 110 Å
Caudal	20 mL/Min
Longitud de onda	214/254 nm
Temperatura del horno	30 ^oC

LC-MS: Rt = 1,369 minutos; 1564 [M+2H]+

Rt = 8,72 minutos (99,1% puro) Gemini C18 5 □□m, 110 Å 150 x 4,6 mm

Rt = 9,42 minutos (97,8%) Discovery BIO Wide Pore C18 5 □□m, 300 Å 150 x 4,6 mm

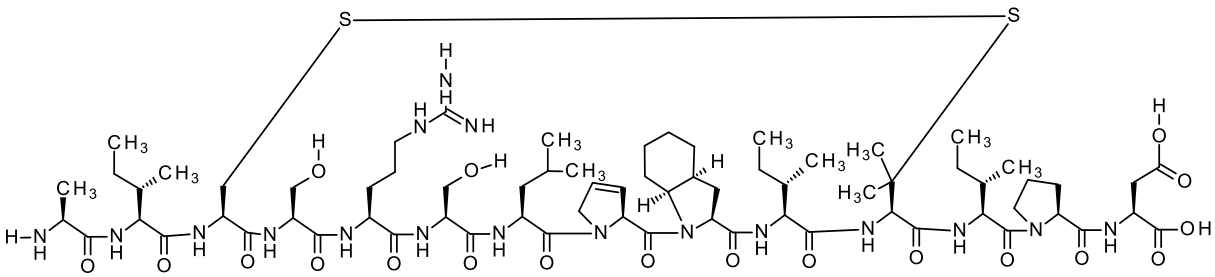
A partir del ejemplo, 13 (sal de TFA), se puede preparar el ejemplo, 29 (sal de HCl) mediante el Método general F; el ejemplo, 5 (forma sin sal) puede preparse mediante el Método general G. Las preparaciones del ejemplo, 431 (sal sódica) y el ejemplo, 432 (sal de colina) a partir del ejemplo, 5 se muestran a continuación como Ejemplo, 431 y Ejemplo, 432, respectivamente.

Ejemplo, 237

AIC+SRSL- (L- deshidroprolina)- (Oic)- I- (Pen)+IPD- OH (ejemplo, 237)

Ácido

N- [(6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,35aS)- 18- [(L- alanil- L- isoleucil)amino]- 26- [(2S)- butan- 2- il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroximetil)- 22,22- dimetil- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,35- octaoxo- 6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,19,23,24,25,26,27,28,28a,29,29a,30,31,32,33,33a,35,35a- triacontahidro- 3H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclononacosino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- L- prolil- L- aspártico



El péptido se preparó de acuerdo con el Método C (3,12 g). Los datos analíticos de este péptido se muestran en las Tablas 16 y 17.

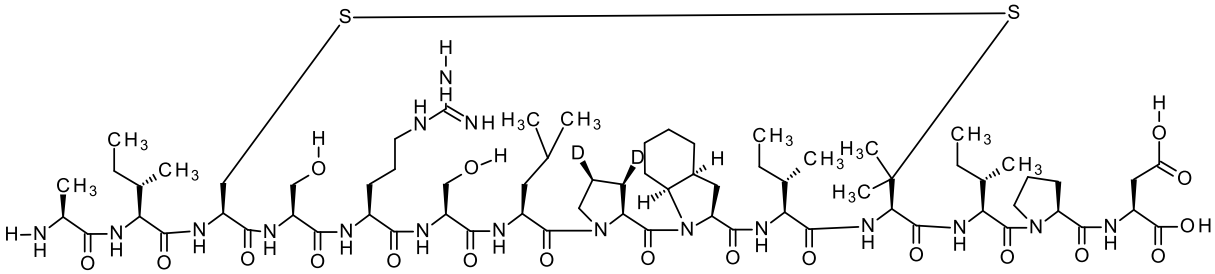
Ejemplo, 142

AIC+SRSL- (Pro- D2)- (Oic)- I- (Pen)+IPD- OH (ejemplo, 142)

Ácido

N- [(1R,2S,6S,9S,12S,15S,18R,23R,26S,28aS,35aS)- 18- [(L- alanil- L- isoleucil)amino]- 26- [(2S)- butan- 2- il]- 12- (3- carbamimidamidopropil)- 9,15- bis(hidroximetil)- 22,22- dimetil- 6- (2- metilpropil)- 5,8,11,14,17,25,28,35- octaoxo(1,2- $^{2}H_{2}$)dotriacontahi-

dro- 1H,5H,22H- pirrolo[2',1':13,14][1,2,5,8,11,14,17,20,23,26]ditiaoctaazaciclo nonacosino[11,10- a]indol- 23- carbonil]- L- isoleucil- L- prolil- L- aspártico



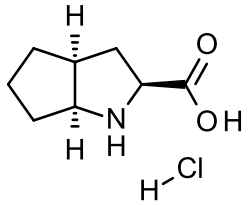
El péptido del ejemplo, 237 (30 mg, 19,2 µmol) se disolvió en metanol-*d4* (3 mL) (99,8% de pureza de D). Se agregó rodio negro (CAS 7440-16-6, ACBR, n.° de artículo AB25746) (10 mol%, 1,9 µmol) a la solución en atmósfera de argón en una cámara de bioseguridad con guantes M-Braun. La mezcla reactiva de 8 mL en ampolla se colocó en un bloque reactor a presión para MTP localizado en una plataforma Chemspeed Swing XL contenido en una cámara de bioseguridad con guantes M-Braun (Chemspeed Technologies AG, Wölferstrasse 8, 4414 Füllinsdorf, Suiza, chemspeed@chemspeed.com). La reacción se agitó vigorosamente con una velocidad orbital de 650 rpm a temperatura ambiente a una presión de 3 bares en atmósfera de deuterio durante 16 horas toda una noche. El bloque de presión se purgó con argón y la ampolla se extrajo del bloque reactor. El metanol-*d4* se evaporó en un evaporador rotativo y el sólido resultante se disolvió en agua (2 mL) y se agitó durante 1 hora para proceder al intercambio de los átomos de deuterio con hidrógeno. Tras 1 hora, se agregó acetonitrilo y el producto se purificó mediante HPLC de fase inversa [columna: Phenomenex Aeris Peptide 5µ XB-C18, AXIA rellena, 21,2 x 250 mm + cartucho 5 µ, fluidez: 20 mL/min, gradiente concentrado mediante H_2O/ACN con 0,1% TFA como modificador acídico. FOK 30-40: 0 min 5% ACN, 0-13 min rampa a 30% ACN, 13-39 min rampa plana a 40% ACN, 39-46 min isocrático 40% ACN]. Las fracciones cromatográficas que contenían el producto se anali-

zaron mediante HPLC analítica (con gradiente concentrado) y LC-MS y luego se agruparon en consecuencia para lograr dos fracciones del producto puro: 11,4 mg (90% pureza, 34% rendimiento) y 4,2 mg (99% pureza, 14% rendimiento). Los datos analíticos de este péptido se muestran en la Tabla 16.

El péptido fue sometido a una digestión en tripsina seguida por una reacción con ditiotreitol y los fragmentos resultantes se analizaron mediante espectrometría de masas de tiempo de vuelo en tándem (TOF-MS-MS). La digestión en tripsina escindió el péptido entre la arginina y la serina (masa exacta 1583,8384; masa determinada 1583;852 [M+2H]2+). La reacción con ditiotreitol produjo dos fragmentos, AICSR- OH (masa exacta 548,2741, masa determinada 548,283 [M+H]+) y SL- (Pro- D2)- (Oic)- I- (Pen)+IPD- OH (masa exacta 1037,5800, masa determinada 1038,587 [M+H]+), con verificación de la posición de los átomos de deuterio en los fragmentos de masa molecular 838,47 amu ((Pro- D2)- (Oic)- I- (Pen)+IPD- OH) y 738,40 amu SL- ((Oic)- I- (Pen)+IPD- OH).

Ejemplo, 28A

Ácido (2S,3aS,6aS)- Octahidrociclopenta[b]pirrole- 2- carboxílico—cloruro de hidrógeno (1/1) (estereoisómero simple)



La reacción se llevó a cabo en atmósfera de argón. A 200 mg de paladio sobre carbono (10%) se le agregaron 20 mL metanol y bencil (2S,3aS,6aS)- octahidrociclopenta[b]pirrolo- 2- carboxilato—cloruro de hidrógeno (1/1) (1,00 g, 3,55 mmol). El matraz de la reacción se cargó con gas hidrógeno (1 atm) y la mezcla reactiva se agitó en atmósfera de hidrógeno toda una noche a temperatura ambiente. Se filtró la mezcla reactiva con tierra de

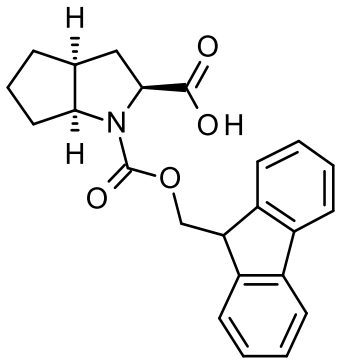
diatomeas y la torta del filtro se lavó con metanol. El filtrado se evaporó y se secó al vacío para obtener 698 mg del compuesto objetivo.

El ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrolo-2-carboxílico también está comercialmente disponible en su forma sin sal.

Ejemplo, 29A

Ácido

(2S,3aS,6aS)-1-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}octahidrociclopenta[b]pirrolo-2-carboxílico (estereoisómero simple)



A 680 mg (3,55 mmol) de ácido (2S,3aS,6aS)-octahidrociclopenta[b]pirrolo-2-carboxílico—cloruro de hidrógeno (1/1) en 12 mL de agua se le agregó bicarbonato de sodio (2,98 g, 35,5 mmol) y una solución de 1-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin-2,5-diona (Fmoc-OSu) (1,26 g, 3,73 mmol) en 18 mL acetona. La mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se trató con agua, se acidificó con ácido clorhídrico 1 M y se extrajo con acetato de etilo dos veces. La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y luego se evaporó. El residuo se separó por medio de cromatografía con gel de sílice (Biotage Isolera, columna: 50 g SNAP Ultra; eluyente: diclorometano/metanol 100:2 – 100:5). Las fracciones

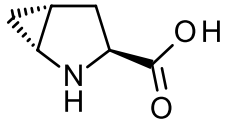
correspondientes se combinaron, evaporaron y secaron al vacío para obtener 1,27 g (99% pureza, 94% rendimiento) del compuesto objetivo.

LC-MS (método 10): R_t = 2,08 minutos; MS (ESI pos): m/z = 378 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,260 (1,76), 1,274 (1,85), 1,299 (1,78), 1,321 (2,09), 1,335 (2,38), 1,440 (0,92), 1,455 (1,10), 1,473 (0,87), 1,521 (3,61), 1,537 (3,86), 1,551 (2,28), 1,607 (4,53), 1,620 (3,68), 1,640 (3,08), 1,653 (1,66), 1,712 (2,02), 1,781 (1,38), 1,816 (2,30), 1,827 (2,26), 1,839 (2,37), 1,855 (1,68), 2,073 (1,20), 2,305 (0,83), 2,328 (1,99), 2,351 (1,35), 2,360 (1,64), 2,384 (0,92), 2,468 (0,60), 2,606 (1,50), 2,670 (1,11), 3,860 (0,94), 3,874 (1,94), 3,893 (1,95), 3,907 (0,92), 4,143 (2,61), 4,156 (3,68), 4,167 (5,16), 4,186 (5,89), 4,266 (1,43), 4,280 (3,20), 4,294 (2,11), 4,345 (1,31), 4,371 (3,19), 4,386 (3,83), 4,396 (4,39), 4,411 (3,74), 4,422 (2,40), 4,437 (0,98), 7,292 (0,97), 7,311 (3,89), 7,329 (6,99), 7,346 (6,08), 7,363 (2,49), 7,395 (9,91), 7,414 (16,00), 7,432 (6,98), 7,663 (9,73), 7,680 (6,46), 7,879 (12,31), 7,897 (11,49), 12,586 (0,80).

Ejemplo, 30A

Ácido (1R,3S,5R)‑2‑azabiciclo[3.1.0]hexan‑3‑carboxílico (estereoisómero simple)

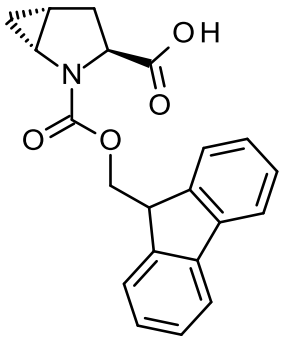


Ácido

(1R,3S,5R)‑2‑(terbutoxicarbonil)‑2‑azabiciclo[3.1.0]hexan‑3‑carboxílico (CAS RN: 197142-34-0, 500 mg) se disolvió en una solución 4 M HCl-dioxano (3 mL) y se agitó 8 horas a temperatura ambiente. El solvente se evaporó y el producto crudo se usó directamente para el paso siguiente.

Ejemplo, 31A

Ácido
(1R,3S,5R)- 2- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 2- azabiciclo[3.1.0]hexan - 3- carboxílico (estereoisómero simple)



A una solución de ácido (1R,3S,5R)- 2- azabiciclo[3.1.0]hexan- 3- carboxílico (Ejemplo, 30A, 280 mg, 2,20 mmol) en 3 mL agua se le agregó bicarbonato de sodio (1,85 g, 22,0 mmol) y una solución de 1- ({[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin- 2,5- diona (0,78 g, 2,31 mmol) en 4,5 mL acetona. La mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se trató con agua y se extrajo dos veces con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó por HPLC preparativa de fase inversa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 30 mm; eluyente A: CAN, eluyente B: agua con 0,1% ácido fórmico), y las fracciones que contenían el producto se combinaron y liofilizaron para obtener 88,0 mg (96% pureza, 11% rendimiento) del compuesto objetivo.
LC-MS (método 11): R_t = 1,32 minutos; MS (ESI pos): m/z = 372 $[M+Na]^+$
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,149 (1,15), -0,008 (10,73), 0,008 (9,13), 0,146 (1,21), 0,468 (1,54), 0,534 (3,66), 0,803 (4,38), 1,682 (2,68), 2,072 (0,75), 2,128 (2,19), 2,142 (2,32), 2,223 (1,05), 2,293 (2,19), 2,327 (4,45), 2,349 (2,68), 2,366 (2,75), 2,523 (3,89), 2,670 (1,44), 2,710 (1,31), 2,816 (0,82), 3,413 (3,93), 3,757 (1,83), 4,010 (2,91), 4,140 (2,39), 4,211 (3,11), 4,285 (12,30),

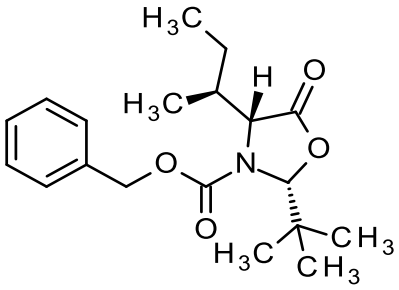
6,929 (0,43), 6,950 (0,43), 7,340 (9,91), 7,358 (6,02), 7,406 (10,08), 7,425 (16,00), 7,443 (7,10), 7,650 (2,85), 7,702 (4,52), 7,724 (5,53), 7,746 (3,40), 7,892 (12,40), 7,910 (9,85), 12,680 (0,65).

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS. Este aminoácido Fmoc también está comercialmente disponible.

Ejemplo, 32A

Bencil

(2R,4R)- 4- [(2S)- butan- 2- il]- 2- terbutil- 5- oxo- 1,3- oxazolidin- 3- carboxy lato (estereoisómero simple)



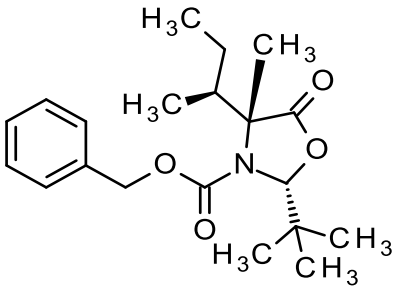
A una suspensión de D-aloisoleucina (8,06 g, 61,4 mmol) en 120 mL etanol se le agregó una solución de hidróxido de sodio hecha con 2,45 g hidróxido de sodio en 11 mL agua. La mezcla reactiva se agitó 90 min a temperatura ambiente y luego se evaporó. El residuo se trató con 195 mL de pentano y luego se agregó 2,2- dimetilpropanal (10 mL, 92 mmol). La mezcla reactiva se agitó 24 horas a 45 °C con un aparato (trampa de destilación) de Dean-Stark conectado a un balón de destilación. Tras el enfriamiento, los solventes se evaporaron y el residuo se secó varias veces con tolueno (destilación azeotrópica). El residuo de trató con 165 mL de diclorometano y se enfrío a 0 °C. Se agregó cloroformato de bencilo (13 mL, 92 mmol) y la mezcla reactiva se agitó durante una semana a 0-4 °C. Se agregó 4-dimetilaminopiridina (375 mg, 3,1 mmol) y 65 mL de agua a la mezcla reactiva, la que se dejó reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente y luego se la agitó toda una noche. La mezcla reactiva se trató varias veces con acetato de etilo y se extrajo. La fase orgánica combi-

nada se lavó dos veces con ácido cítrico acuoso al 10% y luego otras dos veces con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La fase acuosa se volvió a extraer con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y luego se evaporaron. El residuo se purificó por medio de cromatografía con gel de sílice (Isolera; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 100:3 – 100:7). Las fracciones que contenían el producto se combinaron, evaporaron y secaron al vacío para obtener 8,71 g del compuesto objetivo.

Ejemplo, 33A

Bencil

(2R,4R)- 4- [(2S)- butan- 2- il]- 2- terbutil- 4- metil- 5- oxo- 1,3- oxazolidin- 3 - carboxilato (estereoisómero simple)



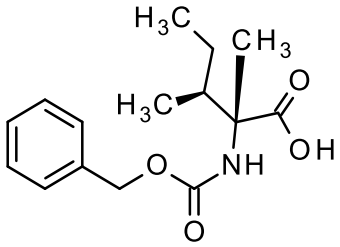
La reacción se llevó a cabo en atmósfera de argón. Bencil (2R,4R)- 4- [(2S)- butan- 2- il]- 2- terbutil- 5- oxo- 1,3-

oxazolidin- 3- carboxilato (Ejemplo, 32A, 8,12 g, 24,4 mmol) en 100 mL de THF seco se enfrío a -78 °C. Se agregó hexametildisilazida de potasio (44 mL, 29 mmol) gota a gota y la mezcla reactiva se agitó durante 2 horas a -78 °C. Se agregó iodometano (2,3 mL, 37 mmol) gota a gota a la mezcla reactiva y se agitó durante 2,5 horas a temperatura ambiente. Se agregó solución acuosa saturad de cloruro de amonio (20 mL) a la mezcla reactiva y se dejó reposar a temperatura ambiente. Luego, se extrajo el producto en acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y luego

se concentraron. El residuo se purificó por medio de cromatografía con gel de sílice (Isolera, columna: 100 g SNAP Ultra; eluyente: ciclohexano/acetato de etilo 100:3 – 100:7). Las fracciones que contenían el producto se combinaron, evaporaron y secaron al vacío para obtener 3,2 g del compuesto objetivo.

Ejemplo, 34A

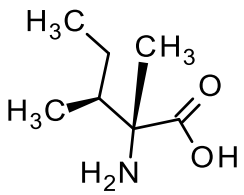
N- [(benciloxi)carbonil]- 2- metil- D- aloisoleucina (estereoisómero simple)



A una solución de bencil (2R,4R)- 4- [(2S)- butan- 2- il]- 2- terbutil- 4- metil- 5- oxo- 1,3- oxacolidin- 3 - carboxilato (Ejemplo, 33A, 3,20 g, 9,21 mmol) en metanol (40 mL) se le agregó solución de hidróxido de sodio 1 M (40 mL). La mezcla reactiva se agitó durante 2 horas a reflujo. Tras el enfriamiento, se evaporó el metanol. El residuo se trató con solución de ácido cítrico al 10% y el producto se extrajo en acetato de etilo. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo dos veces más. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, se evaporaron y luego se secaron al vacío para obtener 2,77 g del compuesto objetivo.

Ejemplo, 35A

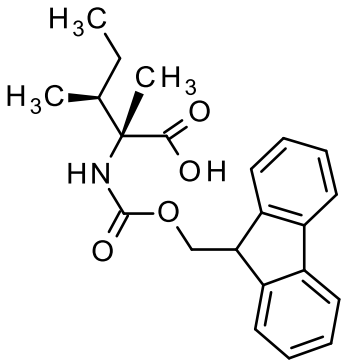
2- metil- D- aloisoleucina (estereoisómero simple)



La reacción se llevó a cabo en atmósfera de argón. A N- [(benciloxi)carbonil]- 2- metil- D- aloisoleucina (Ejemplo, 34A, 2,57 g, 9,20 mmol) en 190 mL metanol se le agregó paladio sobre carbono (390 mg, 10%). La mezcla reactiva se agitó en atmósfera de hidrógeno durante 4 horas a temperatura ambiente y presión normal. La mezcla reactiva se filtró con tierra de diatomeas y el filtrado se concentró y luego se secó al vacío para obtener 1,32 g (98% rendimiento) del compuesto objetivo.

Ejemplo, 36A

N- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 2- metil- D- aloisoleucina (estereoisómero simple)



A una solución de 2- metil- D- aloisoleucina (Ejemplo, 35 A, 1,32 g, 9,09 mmol) en una mezcla de agua (20 mL) y acetona (29 mL) se le agregó bicarbonato de sodio (7,64 g, 90,9 mmol) y luego una solución de 1- ({[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin- 2,5- diona (3,22 g, 9,55 mmol) in acetona (20 mL). La mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se trató con MTBE y se extrajo. La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado (pH 1) y se extrajo con acetato de etilo tres veces más. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron. El residuo se separó por medio de cromatografía con gel de sílice (Isolera, columna: 50 g SNAP

Ultra; eluyente: diclorometano/metanol 100:3 – 100:5). Las fracciones correspondientes se combinaron, evaporaron y secaron al vacío.

La fase de MTBE se trató a continuación con una solución de bicarbonato de sodio al 5% y se extrajo con acetato de etilo. (600 mL). La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado (pH 1) y se extrajo con acetato de etilo cada vez. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, se evaporaron y se secaron al vacío. El rendimiento del producto crudo combinado fue de 2,53 g.

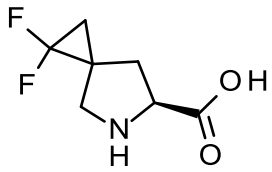
El residuo se purificó por medio de cromatografía con gel de sílice (Isolera, columna: 50 g SNAP Ultra; eluyente: diclorometano/metanol 97:3 – 97:5). Las fracciones que contenían el producto se combinaron, evaporaron y secaron al vacío para obtener 967,4 mg del compuesto objetivo. Luego, el producto se disolvió en una mezcla de agua/acetonitrilo y se liofilizó antes de su uso.

LC-MS (método 10): R_t = 2,10/minutos; MS (ESI pos): m/z = 368,1857 $[M+H]^+$

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 37A

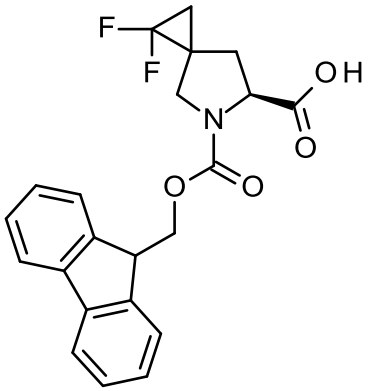
Ácido (6S)‑ 1,1‑ difluoro‑ 5‑ azaspiro[2.4]heptan‑ 6‑ carboxílico (mezcla de estereoisómeros)



A 2,50 g (9,02 mmol) de ácido (6S)‑ 5‑ (terbutoxicarbonil)‑ 1,1‑ difluoro‑ 5‑ azaspiro[2.4]heptan‑ 6‑ carboxílico (Omega, CAS 1357482‑ 03‑ 1) en 85 mL de diclorometano se le agregó ácido trifluoroacético (15 mL, 250 mmol). La mezcla reactiva se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró y secó al vacío para el paso siguiente.

Ejemplo, 38A

Ácido
(6S)- 5- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 1,1- difluoro- 5- azaspiro[2.4]he ptan- 6- carboxílico (mezcla de estereoisómeros)



A una solución de ácido (6S)- 1,1- difluoro- 5- azaspiro[2.4]heptan- 6- carboxílico (mezcla de estereoisómeros) (Ejemplo, 37A, 1,60 g, 9,03 mmol) en agua (13 mL) se le agregó bicarbonato de sodio (7,59 g, 90,3 mmol) y luego una solución de 1- ({[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin- 2,5- diona (3,20 g, 9,48 mmol) en acetona (20 mL). La mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se diluyó con agua y se extrajo dos veces con MTBE. La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico concentrado a pH 3 y se extrajo con diclorometano tres veces. La fase orgánica se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se evaporó y se secó al vacío para obtener 3,31 g (92% rendimiento) del compuesto objetivo.

LC-MS (método 10): R_t = 1,99 minutos; MS (ESI pos): m/z = 400 $[M+H]^+$

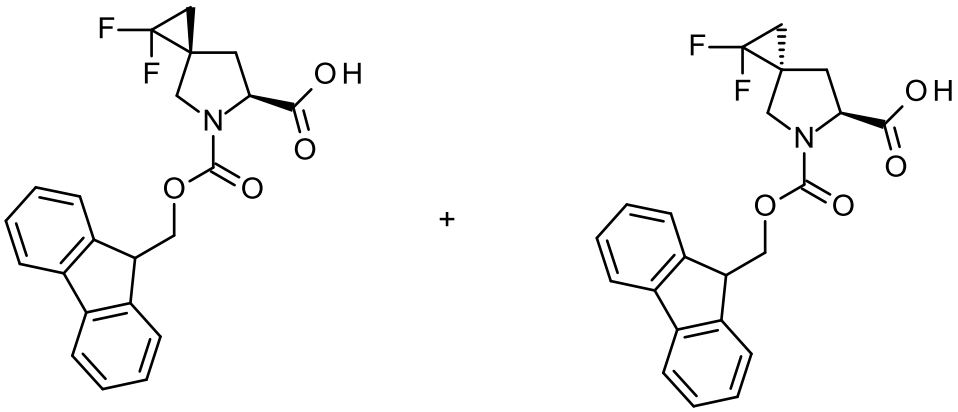
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,106 (16,00), 1,589 (0,92), 1,605 (1,39), 1,619 (1,06), 1,627 (1,11), 1,655 (0,62), 1,682 (1,25), 1,703 (1,21), 1,916 (0,49), 1,949 (0,86), 1,978 (0,91), 2,012 (0,85), 2,042 (0,52), 2,086 (11,35), 2,558 (0,83), 2,568 (0,67), 2,591 (0,67), 2,645 (0,52), 2,670 (0,56), 3,077 (5,29), 3,442 (0,43), 3,452 (0,50), 3,471 (1,17), 3,479 (1,13), 3,500 (1,39), 3,527 (0,51),

3,562 (1,21), 3,627 (1,20), 3,652 (1,65), 3,677 (0,78), 4,186 (1,02), 4,200 (2,72), 4,223 (2,09), 4,238 (2,18), 4,257 (1,63), 4,279 (2,63), 4,294 (2,46), 4,306 (1,36), 4,322 (1,56), 4,348 (2,13), 4,359 (1,17), 4,372 (1,33), 4,382 (0,84), 4,477 (0,57), 4,499 (0,61), 4,510 (0,69), 4,518 (0,72), 4,533 (0,73), 4,541 (0,64), 5,754 (0,94), 7,300 (0,77), 7,316 (3,26), 7,334 (5,65), 7,353 (3,32), 7,406 (4,71), 7,425 (7,78), 7,443 (3,45), 7,640 (4,69), 7,659 (4,35), 7,683 (0,73), 7,884 (5,08), 7,903 (4,79).

Ejemplo, 39A

Ácido

(6S)- 5- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 1,1- difluoro- 5- azaspiro[2.4]heptan- 6- carboxílico (enantiómero 1) y (enantiómero 2)



La mezcla diastereomérica se separó mediante un equipo Prep 200 para cromatografía de fluidos supercríticos (THAR) con una columna Chiralpcel AD-H (SFC) 5 µm, 250 x 30 mm; eluyente: CO_2/isopropanol (83:17); presión: 135 bares; temperatura del eluyente: 38 °C; temperatura del ciclón: 40 °C; presión del ciclón: 24 bares; velocidad de flujo: 100 g/min; detección: UV 210 nm; volumen de inyección: 0,4 mL/inyección; en condiciones operativas generales, 1 g/min de CO_2 es aproximadamente equivalente a 1 mL/min. Configuración de la secuencia: tiempo del ciclo = 11,2 minutos

La fracción 1 se recolectó entre los 5,85 minutos y los 8,0 minutos (enantiómero 1)

La fracción 2 se recolectó entre los 8,4 minutos y los 10,25 minutos (enantiómero 2)

Las fracciones se concentraron.

Las fracciones se analizaron mediante un cromatógrafo de fluidos supercríticos con un espectrógrafo de masa acoplado (SFC-MS) analítico (Agilent, columna: Chiralpak AD-3 3 µm 100 x 4,6 mm, eluyente: CO_2/isopropanol (85:15); presión BPR: 130 bares; temperatura BPR: 60 °C; temperatura de la columna: 40 °C; tasa de flujo: 3 mL/min; UV 210 nm.

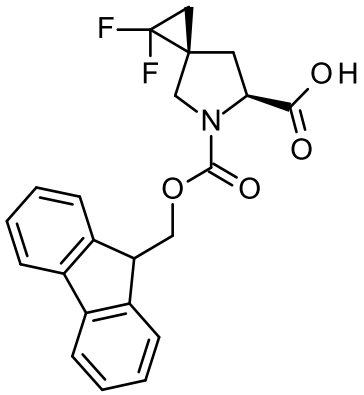
A la fracción 1 (rt = 2,081 minutos) se le asignó la suma "(enantiómero 1)".

A la fracción 2 (rt = 2,838 minutos) se le asignó la suma "(enantiómero 2)".

La estereoquímica de los dos enantiómeros no se asignó.

Ejemplo, 40A

Ácido (3R*,6S)-5-{[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}-1,1-difluoro-5-azaspiro[2.4]heptan-6-carboxílico (enantiómero simple, enantiómero 1, la estereoquímica en la posición 3 no está definida)



A partir de la purificación quiral por SFC preparativa, se obtuvieron 2015 g del compuesto del título, 100% ee.

LC-MS (método 10): R_t = 1,99 minutos; MS (ESI pos): m/z = 400 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (0,70), 0,008 (0,74), 1,032 (15,85), 1,047 (16,00), 1,285 (1,59), 1,568 (0,69), 1,589 (1,52), 1,617 (1,57),

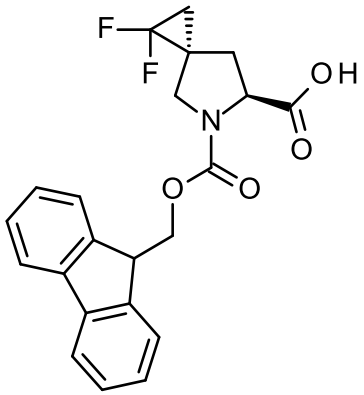
1,635 (0,96), 1,656 (0,63), 1,686 (1,36), 1,702 (1,37), 1,941 (0,90), 1,974 (1,05), 2,008 (0,87), 2,041 (0,90), 2,073 (1,11), 2,557 (1,08), 2,566 (0,95), 2,591 (0,80), 2,645 (0,71), 2,670 (0,95), 2,701 (0,65), 3,451 (0,87), 3,468 (1,64), 3,479 (1,88), 3,495 (1,12), 3,505 (1,17), 3,626 (2,11), 3,651 (2,91), 3,677 (1,38), 3,770 (0,41), 3,778 (0,42), 4,169 (0,43), 4,186 (1,17), 4,200 (3,11), 4,221 (2,05), 4,238 (1,40), 4,256 (1,57), 4,279 (3,79), 4,293 (3,74), 4,304 (1,62), 4,322 (2,70), 4,336 (1,12), 4,348 (2,93), 4,358 (1,92), 4,371 (1,64), 4,381 (1,52), 4,509 (1,14), 4,517 (1,25), 4,531 (1,28), 4,540 (1,12), 7,300 (0,91), 7,315 (3,87), 7,334 (7,04), 7,350 (3,82), 7,352 (4,21), 7,406 (5,88), 7,424 (9,76), 7,443 (4,35), 7,640 (7,54), 7,658 (6,74), 7,885 (6,80), 7,904 (6,34), 10,194 (0,55), 10,991 (0,42).

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 41A

Ácido

(3S*,6S)- 5- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 1,1- difluoro- 5- azaspiro[2.4]heptan- 6- carboxílico (enantiómero simple, enantiómero 2, la estereoquímica en el centro -ciclopropilo no está asignada)



A partir de la purificación quiral por SFC preparativa, se obtuvieron 1,041 g del compuesto del título, 94,58% ee.

LC-MS (método 10): R_t = 1,93 minutos; MS (ESI pos): m/z = 400 $[M+H]^+$

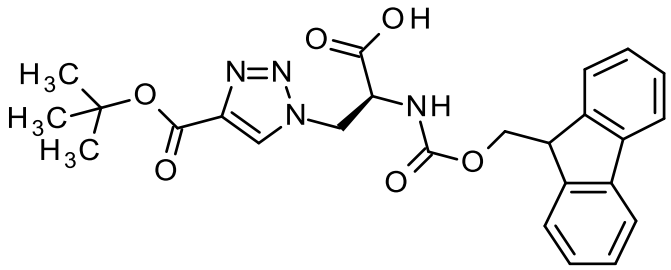
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (1,19), 0,008 (1,31), 1,031 (0,55), 1,047 (0,56), 1,285 (0,60), 1,583 (1,53), 1,604 (4,87), 1,627 (5,45), 1,650

(3,25), 1,673 (2,78), 1,682 (3,76), 1,704 (3,11), 1,718 (0,95), 1,915 (3,17), 1,949 (3,55), 1,979 (3,13), 2,012 (3,33), 2,073 (3,85), 2,526 (1,60), 2,590 (1,44), 2,626 (1,61), 2,649 (0,89), 2,659 (0,80), 3,471 (2,04), 3,498 (5,50), 3,527 (3,26), 3,561 (7,96), 3,570 (4,68), 3,598 (0,84), 4,167 (0,94), 4,183 (2,75), 4,199 (6,46), 4,223 (7,75), 4,238 (9,60), 4,258 (5,95), 4,277 (4,06), 4,290 (3,98), 4,306 (3,80), 4,319 (4,63), 4,340 (4,17), 4,346 (4,47), 4,354 (2,34), 4,367 (3,96), 4,477 (3,66), 4,497 (3,66), 7,300 (1,97), 7,318 (8,34), 7,334 (11,70), 7,337 (12,42), 7,352 (6,35), 7,355 (6,41), 7,407 (9,62), 7,425 (16,00), 7,444 (7,11), 7,633 (6,46), 7,651 (10,65), 7,666 (6,62), 7,683 (4,36), 7,883 (9,71), 7,893 (10,32), 7,901 (9,57), 7,912 (8,99), 12,802 (0,79), 12,984 (0,67).

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 42A

3- [4- (terbutoxicarbonil)- 1H- 1,2,3- triazol- 1- il]- N- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- L- alanina (estereoisómero simple)



A 1,00 g (2,84 mmol) de 3- azido- N- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- L- alanina en una mezcla de 27 mL de agua/tertbutanol/diclorometano (1:1:1) se le agregó terbutil prop- 2- inoato (580 µL, 4,3 mmol), sulfato de cobre (II) pentahidrato (709 mg, 2,84 mmol) y una solución de ascorbato de sodio (1,41 g, 7,10 mmol) en 14 mL agua. La mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se trató con agua, se acidificó con ácido cítrico diluido y se extrajo con diclorometano tres veces. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y luego se evaporó. El residuo se absorbió en una mezcla de

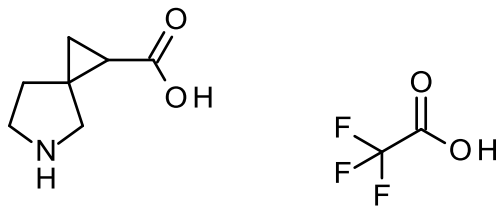
acetonitrilo/agua y se separó en 2 partes mediante HPLC preparativa (columna: Chromatorex C18 10 µm 125 x 40 mm; gradiente agua-acetonitrilo con 0,05% TFA: 0-2 minutos 25% acetonitrilo, 2-22 minutos 25-75% acetonitrilo, 23-26 minutos 75% acetonitrilo, 26-28 minutos vuelve a 25% acetonitrilo; fluidez 100 mL/min). Las fracciones que contenían el producto se combinaron, evaporaron y secaron al vacío para obtener 1,02 g (100% pureza, 75% rendimiento) del compuesto objetivo.

LC-MS (método 11): R_t = 1,30 minutos; MS (ESI neg): m/z = 477 $[M+H]^+$

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 43A

Ácido 5- azaspiro[2.4]heptan- 1- carboxílico—ácido trifluoroacético (1/1)



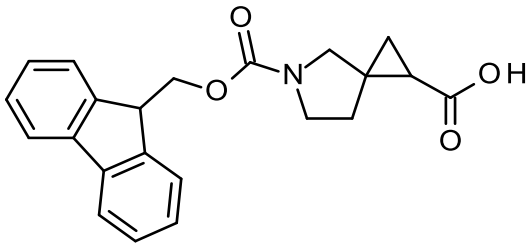
A una solución de ácido 5- (tertbutoxicarbonil)- 5- azaspiro[2.4]heptan- 1- carboxílico (1,00 g, 4,14 mmol) en 25 mL diclorometano se le agregó TFA (960 µL, 12 mmol). La mezcla reactiva se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se evaporó y se secó al vacío para obtener 0,80 g (76% rendimiento) del compuesto objetivo.

LC-MS (método 9): R_t = 0,18 minutos; MS (ESI pos): m/z = 142 $[M+H]^+$

Ejemplo, 44A

Ácido

5- {[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 5- azaspiro[2.4]heptan- 1- carboxílico



A una solución de ácido 5‑azaspiro[2.4]heptan‑1‑carboxílico—ácido trifluoroacético (1/1) (Ejemplo, 43A, 994 mg, 3,90 mmol) en una mezcla de 5 mL acetonitrilo y 5 mL agua se le agregó 1‑({[(9H‑fluoren‑9‑il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin‑2,5‑diona (2,63 g, 7,79 mmol) y trietilamina (2,2 mL, 16 mmol). La mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se trató con agua, se acidificó con ácido clorhídrico 1 M a pH 4 y se extrajo con diclorometano tres veces. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron. El residuo se trituró con acetonitrilo; luego, el precipitado se recolectó por filtración y se lavó con acetonitrilo. El filtrado se purificó en 3 partes mediante HPLC preparativa (columna: Chromatorex C18 10 µm 125 x 40 mm; gradiente agua-acetonitrilo con 0,05% TFA: 0-2 minutos 25% acetonitrilo, 2-22 minutos 25-75% acetonitrilo, 23-26 minutos 75% acetonitrilo, 26-28 minutos vuelve a 25% acetonitrilo; fluidez 100 mL/min). Las fracciones correspondientes se combinaron, evaporaron y secaron al vacío para obtener 1,16 g (95% pureza, 78% rendimiento) del compuesto objetivo.

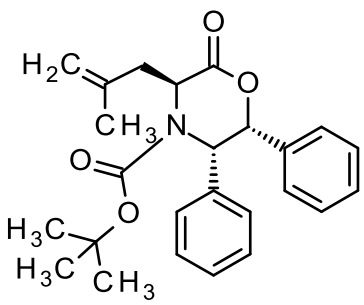
LC-MS (método 9): R_t = 0,99 minutos; MS (ESI pos): m/z = 364 $[M+H]^+$

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 45A

Terbutil

(3S,5S,6R)‑3‑(2‑metilallil)‑2‑oxo‑5,6‑difenil‑morfolin‑4‑carboxilato



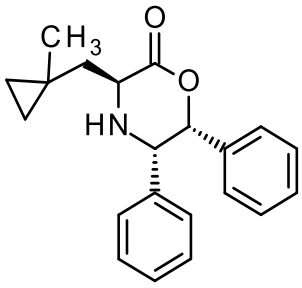
Se procesaron dos lotes en paralelo: A una solución de terbutil (2R,3S)- 6- oxo- 2,3- difenil- morfolin- 4- carboxilato (90,0 g, 255 mmol) y 3- bromo- 2- metil- prop- 1- eno (37,0 g, 27,6 mL, 274 mmol) en THF (1,8 L) y HMPA (180 mL) se le agregó sodio bis(trimetilsilil)amida (279 mL, 1 M en THF) gota a gota a - 70 °C durante un período de 60 minutos en atmósfera de nitrógeno. Luego, la solución se agitó a -70 °C durante 30 minutos. La reacción se combinó y desactivó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (2,5 L) y luego se extrajo con acetato de etilo (2,0 L; 2 veces). La fase orgánica combinada se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (1,5 L; 2 veces), se secó en sulfato de sodio, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo= 1/0, 10/1) para obtener el residuo; la mezcla del residuo con éter de petróleo/EtOAc (2,0 L/0,2 L) se agitó durante 0,5 horas a 25 °C, luego se filtró para obtener 145 g (89% pureza, 62% rendimiento) del compuesto objetivo.

LC-MS: Rt = 1,027 minutos, MS+Na = 430,2

^{1}H RMN: $CDCl_3$: 7,35–7,00 (m, 8H), 6,52 (m, 2H), 6,35–6,28 (m, 1H), 5,15–4,82 (m, 4H), 2,95–2,70 (m, 2H), 1,87 (s, 3H), 1,41 (s, 3H), 1,03 (s, 6H)

Ejemplo, 46A

(3S,5S,6R)- 3- [(1- metilciclopropil)metil]- 5,6- difenil- morfolin- 2- ona

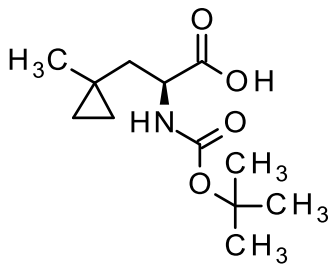


Se procesaron tres lotes en paralelo. A una solución de terbutil (3S,5S,6R)- 3- (2- metilallil)- 2- oxo- 5,6- difenil- morfolin- 4- carboxilato (Ejemplo, 45A, 35,0 g, 76 mmol) en 1,3 L diclorometano se le agregó dietilzinc (400 mL, 1 M en tolueno) at 0 °C durante 30 minutos; luego se agregó cloro(iodo)metano (140 g, 793 mmol, 57,6 mL) a 0 °C durante 30 minutos. La reacción se agitó durante 1,5 hora a 0 °C. La reacción se combinó y vertió en 2,0 L de solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio, se filtró y luego el filtrado se extrajo con diclorometano (1,0 L; 2 veces). La fase orgánica combinada se lavó con 1,5 L solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó en sulfato de sodio y se filtró a través de una pieza corta de sílice. Luego, el filtrado se concentró para obtener un residuo. La mezcla del residuo con éter de petróleo/acetato de etilo/diclorometano (10/1/1, 400 mL) se agitó durante 0,5 horas a 25 °C y se filtró. El filtrado se concentró a aproximadamente 120 mL, luego se filtró para obtener 20 g (92% pureza, 25% rendimiento) del compuesto objetivo.

LC/MS: Rt = 0,909 minutos, MS+H+ = 322,2

Ejemplo, 47A

Ácido (2S)- 2- (tertbutoxicarbonilamino)- 3- (1- metilciclopropil)propanoico

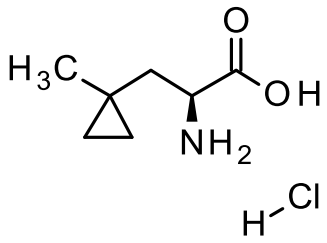


A una solución en agitación que contenía etanol (50 mL), amoníaco líquido (600 mL), THF (500 mL) y (3S,5S,6R)- 3- [(1- metilciclopropil)metil]- 5,6- difenil- morfolin- 2- ona (Ejemplo, 46A, 57,4 g) enfriada a - 70 °C se le agregó litio (8 g, 1,15 mol) en pequeños trozos durante 0,5 horas a - 70 °C hasta obtener un color azul oscuro per-

sistente durante 10 minutos a - 70 °C. La reacción se desactivó mediante el agregado cuidadoso de 50 mL de solución acuosa de cloruro de amonio al 20%, se retiró el baño frío y la reacción se llevó a 25 °C. La mezcla reactiva se diluyó con 300 mL agua y se extrajo con MTBE (200 mL; 2 veces). La fase acuosa se enfrió en hielo, se acidificó a pH 1 con ácido clorhídrico acuoso 1 M y se extrajo inmediatamente con acetato de etilo (800 mL, 2 veces). Las fases combinadas de acetato de etilo se lavaron con 300 mL de solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron en sulfato de sodio y se concentraron a presión reducida para obtener 24 g (99 mmol) del compuesto objetivo.

Ejemplo, 48A

Clorhidrato de ácido (2S)- 2- amino- 3- (1- metilciclopropil)propanoico

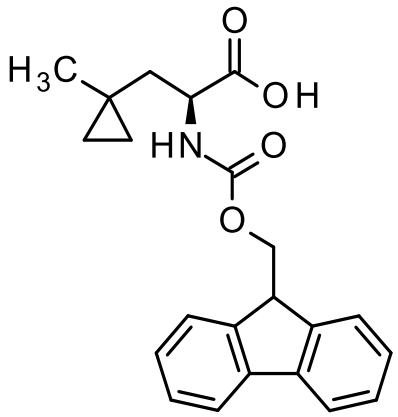


A la solución de ácido (2S)- 2- (tertbutoxicarbonilamino)- 3- (1- metilciclopropil)propanoico (Ejemplo, 47A, 24,0 g, 99 mmol) en diclorometano (60 mL) se le agregó una mezcla de ácido clorhídrico/dioxano (200 mL, 4 M) durante 15 minutos a 25 °C, luego la solución se agitó durante 0,5 horas a 25 °C. La reacción se concentró para obtener un residuo. El residuo se trató con 150 mL de MTBE, se agitó durante 15 minutos a 25 °C y se filtró para obtener 16 g (90% rendimiento) del compuesto objetivo.

^{1}H RMN: DMSO-d6: 0,21-0,33 (3 h, m), 0,37-0,51 (1 h, m), 1,64-1,81 (2 h, d), 3,88-3,92 (1 h, t), 8,41 (3 h, s), 13,73 (1 h, s)

Ejemplo, 49A

Ácido
(2S)- 2- (9H- fluoren- 9- ilmetoxicarbonilamino)- 3- (1- metilciclopropil)propanoico



A una solución de clorhidrato de ácido ((2S)- 2- amino- 3- (1- metilciclopropil)propanoico (Ejemplo, 48A, 14 g, 77,9 mmol) y carbonato de sodio (25 g, 236 mmol) en THF (200 mL) y agua (200 mL) se le agregó 1- ({[(9H- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin- 2,5- diona (25 g, 74,1 mmol) durante 30 minutos a 0 °C. Luego, la solución se agitó durante 2 horas a 0 °C. Se agregaron 100 mL agua. La solución se extrajo con MTBE (300 mL, 2 veces) antes de ajustar el pH de la fase acuosa a 2 con ácido clorhídrico acuoso 2 M. La fase orgánica combinada se lavó con 150 mL solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó en sulfato de sodio y se filtró a través de una columna pequeña de sílice. El filtrado se concentró para obtener un residuo. El residuo combinado (de los desarrollos anteriores) se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo [10:1, 3:1] para obtener un residuo semipuro. El residuo se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (columna: Phenomenex Luna C18 250 x 50 mm, 10 □m; fase móvil: [agua (0,05% HCl)-ACN]; B%: 38% - 68%, 31 minutos, 50%

mín.) para obtener 24,4 g (97% pureza, 74% rendimiento) del compuesto objetivo.

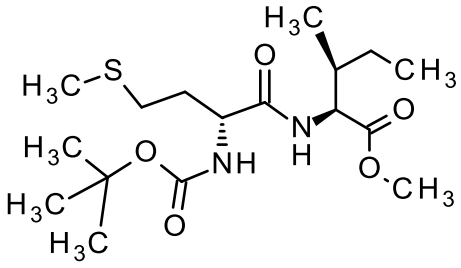
LC-MS: Rt = 0,914 minutos, [M+H]+ = 366,1

^{1}H RMN: $CDCl_3$: δ ppm 0,23- 0,40 (4 h, m), 1,02- 1,20 (3 h, m), 1,48- 1,95 (2 h, m), 4,22- 4,33 (1 h, m), 4,39 - 4,61 (3 h, m), 5,26- 5,33 (1 h, m), 7,31- 7,49 (4 h, m), 7,56- 7,81 (4 h, m).

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 50A

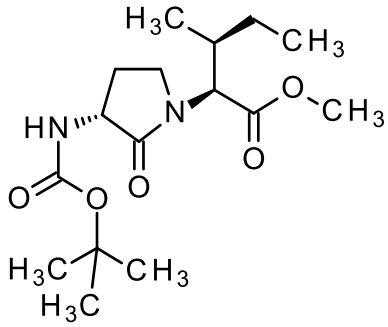
Metil *N*- (*ter*- butoxicarbonil)- *D*- metionil- *L*- isoleucinato



Se disolvió *N*- (*tert*butoxicarbonil)- D- metionina (2,42 g, 9,71 mmol), metil *L*- isoleucinato—cloruro de hidrógeno (1/1) (1,76 g, 9,71 mmol), 1*H*- benzotriazol- 1- ol (1,78 g, 11,6 mmol), 3- {[(Etilimino)metilen]amino}- *N*,*N*- dimetilpropan- 1- amina clorhidrato (1:1) (2,23 g, 11,6 mmol) y N,N- diisopropiletilamina (3,5 mL, 20 mmol) en DMF (30 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Luego, se agregó agua (100 mL) y la mezcla se extrajo con dos partes de acetato de etilo. El extracto orgánico combinado se lavó en secuencia con ácido clorhídrico, agua (10 mL), solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (10 mL) y salmuera; luego se secó en sulfato de sodio anhidro. La capa orgánica se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en éter y el producto se cristalizó. El sólido se filtró y se lavó en secuencia con éter y pentano. Se obtuvieron 3,13 g (99% pureza, 86% rendimiento) del compuesto del título.

Ejemplo, 51A

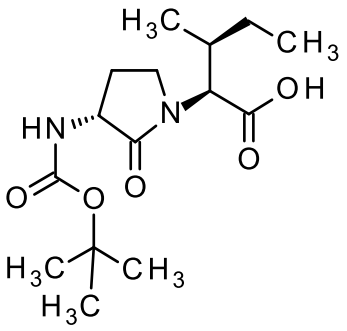
Metil (2*S*, 3*S*)- 2- {(3*R*)- 3- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- oxopirrolidin- 1- il}- 3- metilpentanoato



Se disolvió metil *N*- (*tert*- butoxicarbonil)- *D*- metionil- *L*- isoleucinate (Ejemplo, 50A, 2,85 g, 7,57 mmol) en diclorometano (40 mL) y la solución se enfrió a 0 °C. Se agregó tetrafluoborato de trimetiloxonio (1,12 g, 7,57 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se agregó carbonato de potasio(3,13 g, 22,71 mmol). Luego, la mezcla se calentó a reflujo durante 16 horas. La mezcla reactiva se vertió en 50 mL de diclorometano y se lavó con cinco partes de agua. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en sulfato de magnesio anhidro y luego se filtró. El filtrado se concentró y se cristalizó con hexano, lo que produjo 2,01 g (100% pureza, 81% rendimiento) del compuesto del título.

Ejemplo, 52A

Ácido (2*S*, 3*S*)- 2- {(3*R*)- 3- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- oxopirrolidin- 1- il}- 3- metilpentanoico



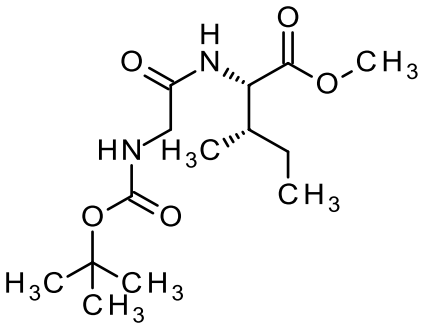
Se disolvió metil (2*S*,3*S*)- 2- {(3*R*)- 3- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- oxopirrolidin- 1- il}- 3- metilpentanoato (ejemplo, 51A, 1,96 g, 5,97 mmol) en THF (7,8 mL) y metanol (7,8 mL). Se agregó una solución de hidróxido de litio (300 mg, 12,5 mmol) en 8 mL de agua y la mezcla se agitó 1 hora a temperatura ambiente. Una vez concentrada la mezcla reactiva, el residuo blanco se disolvió en agua (40 mL), se lavó con DCM (6 mL) y se acidificó con ácido clorhídrico 1 M (12 mL). La mezcla se extrajo con tres partes de acetato de etilo. El extracto orgánico combinado se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y luego se concentró. El residuo se cristalizó con acetato de etilo y hexano, lo que produjo 1,3 g (100% pureza, 67% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 11): R_t = 1,09 minutos; MS (ESI neg): m/z = 313 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,810 (0,96), 0,829 (2,41), 0,847 (1,25), 0,889 (2,53), 0,906 (2,59), 1,387 (16,00), 3,260 (0,71), 3,274 (0,56), 3,283 (0,75), 3,298 (0,64), 4,200 (0,97), 4,225 (0,94).

Ejemplo, 53A

Metil *N*- (*ter*butoxicarbonil)glicil- *L*- isoleucinato



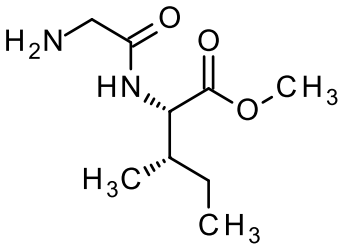
Se disolvió metil *L*-isoleucinato (3,00 g, 20,7 mmol) y N-(*ter*tbutoxicarbonil)glicina (3,98 g, 22,7 mmol) en DMF (20 mL). Esta solución se enfrió a 0-5 °C en un baño de hielo. Se agregó N,N-diisopropiletilamina (3,6 mL, 21 mmol), 1*H*-benzotriazol-1-ol hidrato (316 mg, 2,07 mmol) y 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida clorhidrato (4,36 g, 22,7 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con tres partes de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron en sulfato de magnesio anhidro y se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 0% a 10%) para obtener 5,40 g del compuesto del título (90% pureza, 78% rendimiento).

LC-MS (método 11): R_t = 1,13 minutos; MS (ESI pos): m/z = 247 $[M\text{-}tBu]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,819 (4,90), 0,835 (8,09), 0,853 (2,63), 1,152 (0,40), 1,174 (0,45), 1,354 (1,52), 1,375 (16,00), 1,459 (0,46), 3,561 (0,84), 3,571 (0,98), 3,577 (1,45), 3,594 (0,81), 3,630 (11,35), 4,220 (0,63), 4,237 (0,78), 4,240 (0,82), 4,257

Ejemplo, 54A

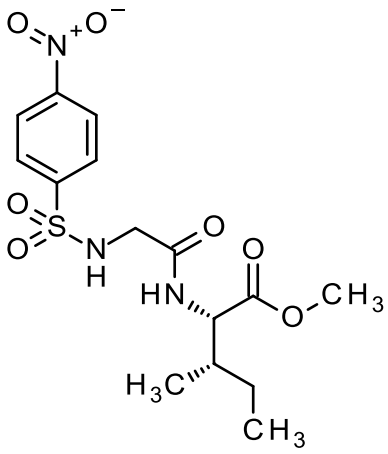
Metil glicil-*L*-isoleucinato



Se disolvió metil *N*-(*ter*butoxicarbonil)glicil-*L*-isoleucinato (ejemplo, 53A, 1,50 g, 4,96 mmol) en DCM (27 mL). Se agregó ácido trifluoroacético (3.0 mL, 39 mmol) y la mezcla reactiva se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró para obtener el producto crudo, que se usó directamente para el paso siguiente.

Ejemplo, 55A

Metil *N*-(4-nitrobencen-1-sulfonil)glicil-*L*-isoleucinato

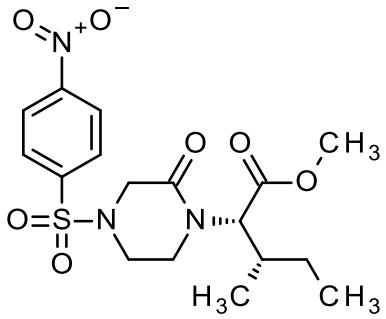


Se disolvió metil glicil-*L*-isoleucinato (Ejemplo, 54A, 1,00 g, 4,96 mmol) en diclorometano (40 mL, 620 mmol), se agregó trietilamina (2,4 mL, 17 mmol) y la solución se enfrió a 0 °C. Se agregó 4-nitrobencen-1-sulfonil cloruro (1,21 g, 5,46 mmol) y la mezcla reactiva se agitó durante 1 hora. Luego, la reacción se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con tres partes de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron en sul-

fato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se concentraron para obtener 1,70 g (71% rendimiento) del compuesto del título. El producto se utilizó directamente para el paso siguiente.

Ejemplo, 56A

Metil (2*S*, 3*S*)- 3- metil- 2- [4- (4- nitrobencen- 1- sulfonil)- 2- oxopiperazin- 1- il]pentanoato

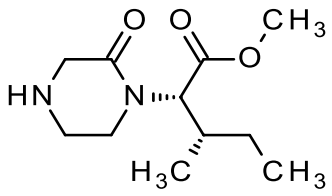


Se disolvió metil *N*- (4- nitrobencen- 1- sulfonil)glicil- *L*- isoleucinato (Ejemplo, 55A, 1,92 g, 4,96 mmol) y 1,2- dibromoetano (4,3 mL, 50 mmol) en DMF. Se agregó carbonato de potasio (6,86 g, 49,6 mmol) y la mezcla se calentó a 60 °C durante 3 horas. Luego, la reacción se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con tres partes de éter. Los extractos orgánicos combinados se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se evaporaron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 6:1) para obtener 1,40 g del compuesto del título (97% pureza, 66% rendimiento).

LC-MS (método 11): R_t = 1,30 minutos; MS (ESI pos): m/z = 414 $[M+H]^+$

Ejemplo, 57A

Metil (2*S*, 3*S*)- 3- metil- 2- (2- oxopiperazin- 1- il)pentanoato

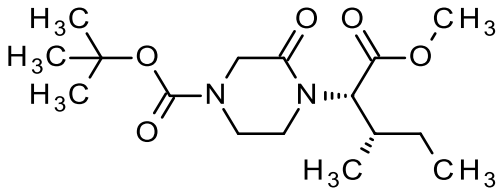


Se disolvió metil (2*S*, 3*S*)- 3- metil- 2- [4- (4- nitrobencen- 1- sulfonil)- 2- oxopiperazin- 1- il]pentanoato (Ejemplo, 56A, 1,40 g, 3,39 mmol) y tiofenol (1,0 mL, 10 mmol) en acetonitrilo (20 mL). Se agregó carbonato de potasio (936 mg, 6,77 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (gradiente diclorometano/metanol 100:0 a 95:5) para obtener 310 mg (40% rendimiento) del compuesto del título, que se usó directamente en el paso siguiente.

Ejemplo, 58A

*Ter*butil

4- [(2*S*,3*S*)- 1- metoxi- 3- metil- 1- oxopentan- 2- il]- 3- oxopiperazina- 1- carboxilato



Se disolvió metil (2*S*, 3*S*)- 3- metil- 2- (2- oxopiperazin- 1- il)pentanoato (Ejemplo, 57A, 310 mg, 1,36 mmol) en diclorometano (1,7 mL, 26 mmol). Se agregó di- *ter*butil dicarbonato (370 µL, 1,6 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Luego, la reacción se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con tres partes de DCM (20 mL). Los extractos orgánicos combinados se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se

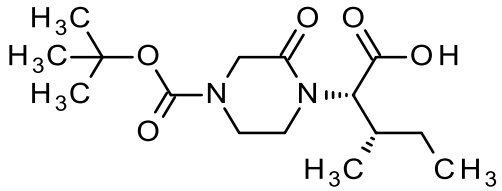
filtraron y luego se concentraron para obtener 440 mg (99% pureza, 98% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (§Método 11): R_t = 1,27 minutos; MS (ESI pos): m/z = 273 $[M+H-tBu]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,807 (0,86), 0,826 (2,27), 0,844 (1,20), 0,870 (2,25), 0,887 (2,30), 1,410 (16,00), 3,645 (6,00), 3,963 (0,63), 3,970 (0,62), 4,766 (0,82), 4,792 (0,80), 5,754 (0,87).

Ejemplo, 59A

Ácido (2*S*, 3*S*)- 2- [4- (*ter*butoxicarbonil)- 2- oxopiperazin- 1- il]- 3- metilpentanoico



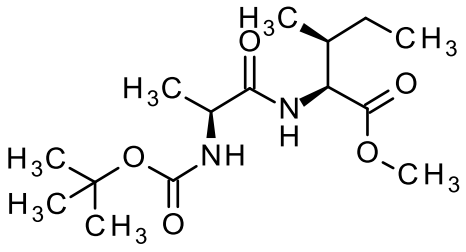
Se disolvió *ter*butil 4- [(2*S*, 3*S*)- 1- metoxi- 3- metil- 1- oxopentan- 2- il]- 3- oxopiperazin- 1- carboxilato (Ejemplo, 58A, 440 mg, 80% pureza, 1,07 mmol) en THF (1,4 mL) y metanol (1,4 mL). Se agregó una solución de hidróxido de litio (53,9 mg, 2,25 mmol) en agua (1,4 mL) y la mezcla se agitó 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró y el residuo se disolvió en agua y luego se lavó con DCM. La capa acuosa se separó, se acidificó a pH 3-4 con ácido clorhídrico 1 M y luego se extrajo tres veces con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró a presión reducida para obtener 310 mg (95% pureza, 87% rendimiento) del compuesto del título como un aceite incoloro.

LC-MS (método 11): R_t = 1,11 minutos; MS (ESI neg): m/z = 313 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,809 (0,81), 0,827 (2,06), 0,845 (1,12), 0,908 (2,11), 0,924 (2,09), 1,411 (16,00), 3,438 (0,43), 3,968 (0,78), 4,688 (0,79), 4,713 (0,77).

Ejemplo, 60A

Metil *N*- (*ter*butoxicarbonil)- *L*- alanil- *L*- isoleucinato



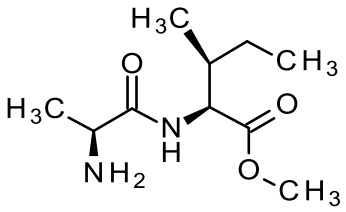
Se disolvió *N*- (*ter*butoxicarbonil)- *L*- alanina (1,50 g, 7,93 mmol) y metil *L*- isoleucinato—cloruro de hidrógeno (1/1) (1,58 g, 8,72 mmol) en DMF (7,7 mL). Esta solución se enfrió a 0-5 °C en un baño de hielo. Se agregó N,N- diisopropiletilamina (1,4 mL, 7,9 mmol), 1*H*- benzotriazol- 1- ol hidrato (121 mg, 793 µmol) y 1- (3- dimetilaminopropil)- 3- etilcarbodiimida clorhidrato (1,67 g, 8,72 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. La reacción se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con tres partes de acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 0% a 15%) para obtener 2,12 g del compuesto del título (100% pureza, 84% rendimiento).

LC LC-MS (Método 10): R_t = 1,70 minutos; MS (ESI pos): m/z = 317 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (1,00), 0,008 (0,77), 0,818 (3,17), 0,825 (4,25), 0,836 (7,51), 0,842 (4,72), 0,855 (3,30), 1,144 (4,07), 1,161 (4,10), 1,179 (0,54), 1,200 (0,53), 1,371 (16,00), 1,398 (13,44), 1,775 (0,49), 2,523 (0,85), 3,621 (15,73), 4,021 (0,46), 4,039 (0,60), 4,207 (1,06), 4,223 (1,19), 4,228 (1,22), 4,244 (1,06), 6,908 (0,61), 6,928 (0,58), 7,886 (0,57), 7,907 (0,60).

Ejemplo, 61A

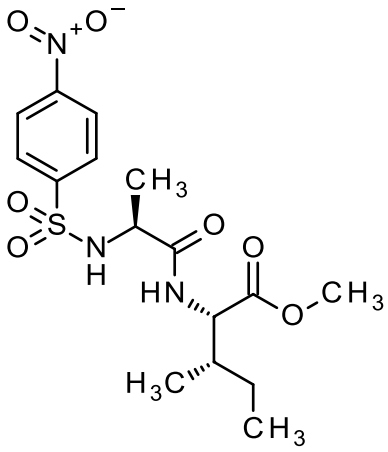
Metil *L*- alanil- *L*- isoleucinato



Se disolvió metil *N*-(*ter*butoxicarbonil)-*L*-alanil-*L*-isoleucinato (Ejemplo, 60A, 2,10 g, 6,64 mmol) en DCM (20 mL). Se agregó ácido trifluoroacético (20 mL, 260 mmol) y la mezcla reactiva se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró y el dipéptido crudo se usó directamente en el paso siguiente.

Ejemplo, 62A

Metil *N*-(4-nitrobencen-1-sulfonil)-*L*-alanil-*L*-isoleucinato



Se disolvió metil *L*-alanil-*L*-isoleucinato (Ejemplo, 61A, 1,44 g, 6,64 mmol) en diclorometano (54 mL), se agregó trietilamina (3,2 mL, 23 mmol) y luego la solución se enfrió a 0 °C. Se agregó 4-nitrobeczen-1-sulfonil cloruro (1,62 g, 7,30 mmol) y se agitó la mezcla reactiva. La reacción se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con dos partes de diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y

luego se concentraron para obtener 1,65 g (95% pureza, 59% rendimiento) del compuesto del título.

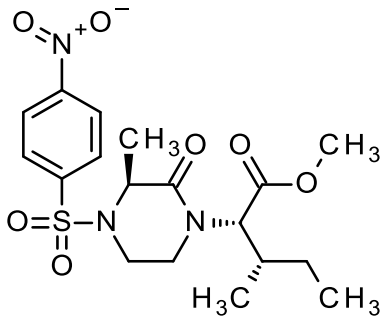
LC-MS (método 11): R_t = 1,18 minutos; MS (ESI neg): m/z = 400 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,008 (0,40), 0,676 (6,59), 0,693 (6,80), 0,740 (2,79), 0,758 (6,99), 0,777 (3,46), 1,013 (0,52), 1,025 (0,62), 1,047 (0,69), 1,066 (0,50), 1,117 (6,09), 1,135 (6,12), 1,175 (0,51), 1,192 (0,64), 1,203 (0,60), 1,210 (0,56), 1,222 (0,67), 1,237 (0,48), 1,243 (0,42), 1,551 (0,53), 1,568 (0,61), 1,578 (0,45), 1,584 (0,47), 1,988 (0,64), 3,577 (16,00), 3,933 (1,14), 3,948 (1,32), 3,953 (1,31), 3,968 (1,12), 4,056 (0,61), 4,073 (0,82), 4,091 (0,54), 7,994 (4,08), 7,999 (1,44), 8,012 (1,63), 8,016 (4,58), 8,135 (1,41), 8,155 (1,39), 8,365 (4,39), 8,383 (1,48), 8,388 (3,90), 8,463 (1,04), 8,482 (0,99).

Ejemplo, 63A

Metil (2*S*,

3*S*)- 3- metil- 2- [(3*S*)- 3- metil- 4- (4- nitrobencen- 1- sulfonil)- 2- oxopipera zin- 1- il]pentanoato



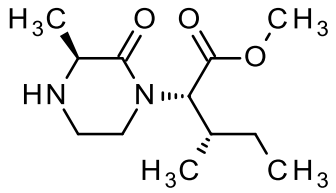
Se disolvió metil *N*- (4- nitrobencen- 1- sulfonil)- *L*- alanil- *L*- isoleucinato (Ejemplo, 62A, 1,65 g, 4,11 mmol) y 1,2- dibromoetano (3,5 mL, 41 mmol) en DMF (35 mL). Se agregó carbonato de potasio (5,68 g, 41,1 mmol) y la mezcla reactiva se calentó a 60 °C durante 3 horas. Luego, la reacción se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con tres partes de éter. Los extractos orgánicos combinados se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se concentraron. El producto crudo se purificó mediante

cromatografía en gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 6:1) para obtener 1,60 g del compuesto del título (70% pureza, 64% rendimiento).

LC-MS (método 11): R_t = 1,30 minutos; MS (ESI pos): m/z = 428 $[M+H]^+$

Ejemplo, 64A

Metil (2*S*,3*S*)- 3- metil- 2- [(3*S*)- 3- metil- 2- oxopiperazin- 1- il]pentanoato

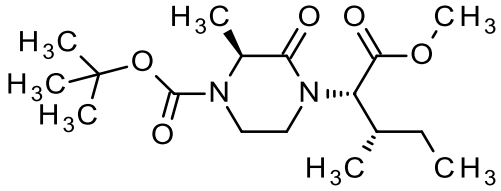


Se disolvió metil (2*S*, 3*S*)- 3- metil- 2- [(3*S*)- 3- metil- 4- (4- nitrobencen- 1- sulfonil)- 2- oxopiperazin- 1- il]pentanoato (Ejemplo, 63A, 900 mg, 2,11 mmol) y tiofenol (650 µL, 6,3 mmol) en acetonitrilo (12 mL). Se agregó carbonato de potasio (582 mg, 4,21 mmol) y la mezcla reactiva se agitó a temperatura ambiente toda una noche. La mezcla se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (gradiente diclorometano/metanol 100:0 a 95:5) para obtener 336 mg (100% pureza, 66% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 13): R_t = 1,09 minutos; MS (ESI pos): m/z = 243 $[M+H]^+$

Ejemplo, 65A

*Ter*butil (2*S*)- 4- [(2*S*, 3*S*)- 1- metoxi- 3- metil- 1- oxopentan- 2- il]- 2- metil- 3- oxopiperazina- 1- carboxilato



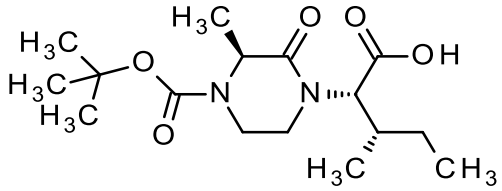
Se disolvió metil (2*S*, 3*S*)- 3- metil- 2- [(3*S*)- 3- metil- 2- oxopiperazin- 1- il]pentanoato (Ejemplo, 64A, 736 mg, 3,04 mmol) en diclorometano (8 mL). Se agregó di- *ter*butil dicarbonato (1,0 mL, 4,6 mmol) y la mezcla reactiva se agitó a temperatura ambiente todo el fin de semana. La reacción se desactivó con cloruro de amonio acuoso concentrado y se extrajo con dos partes de DCM. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con solución de cloruro de sodio, se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 3:1) para obtener 1,08 g del compuesto del título (100% pureza, 104% rendimiento).

LC-MS (método 10): R_t = 1,98 minutos; MS (ESI pos): m/z = 343 $[M+H]^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,800 (0,95), 0,818 (2,41), 0,837 (1,25), 0,875 (2,38), 0,892 (2,43), 1,305 (2,02), 1,323 (2,06), 1,414 (16,00), 3,645 (6,08), 4,769 (0,88), 4,795 (0,86).

Ejemplo, 66A

Ácido (2*S*, 3*S*)- 2- [(3*S*)- 4- (*ter*butoxicarbonil)- 3- metil- 2- oxopiperazin- 1- il]- 3- metilpentanoico



Se disolvió *ter*butil (2*S*)- 4- [(2*S*,3*S*)- 1- metoxi- 3- metil- 1- oxopentan- 2- il]- 2- metil- 3- oxopiperazina- 1- carboxilato (Ejemplo, 65A, 1,08 g, 3,15 mmol) en una mezcla de THF (4,5 mL) y metanol (4,5 mL). Se agregó una solución de hidróxido de litio (159 mg, 6,62 mmol) en agua (4,5 mL) y la mezcla reactiva se agitó 1 hora a

temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró y el residuo se disolvió en cloruro de amonio acuoso concentrado. La capa acuosa se acidificó a pH 3-4 con ácido clorhídrico 1 M y luego se extrajo tres veces con DCM. La capa orgánica combinada se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró para obtener 952 mg (100% pureza, 92% rendimiento) del compuesto del título.

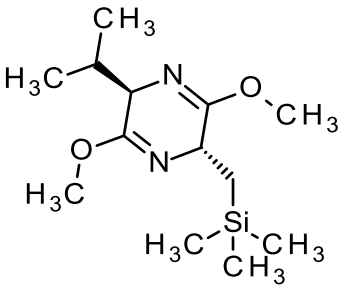
LC-MS (método 9): R_t = 0,87 minutos; MS (ESI pos): m/z = 329 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,802 (1,09), 0,820 (2,24), 0,838 (1,18), 0,911 (2,22), 0,927 (2,28), 1,295 (0,50), 1,308 (2,03), 1,326 (1,99), 1,415 (16,00), 3,342 (0,65), 4,691 (0,84), 4,717 (0,82).

Ejemplo, 67A

(2*R*,

5*R*)- 3,6- dimetoxi- 2- (propan- 2- il)- 5- [(trimetilsilil)metil]- 2,5- dihidropirazina



Se disolvió (2*R*)- 3,6- dimetoxi- 2- (propan- 2- il)- 2,5- dihidropirazina (2,9 mL, 16 mmol) en THF (58 mL) y la solución se enfrió a - 78 °C. Se agregó n- butil litio (10 mL, 1,6 M, 16 mmol) gota a gota con agitación. Se siguió agitando durante 15 minutos a - 78 °C. Se agregó (clorometil)(trimetil)silano (5,0 mL, 36 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente toda una noche. La mezcla reactiva se diluyó con agua y se extrajo con dietiléter. La capa orgánica combinada se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice

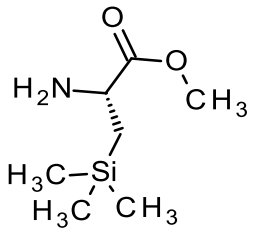
(ciclohexano/acetato de etilo 2%) para obtener 3,0 g del compuesto del título (87% pureza, 60% rendimiento).

LC-MS (método 9): R_t = 1,47 minutos; MS (ESI pos): m/z = 271 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,036 (0,45), -0,028 (9,14), -0,020 (0,46), -0,008 (1,38), 0,580 (3,69), 0,597 (3,75), 0,737 (0,61), 0,762 (0,63), 0,773 (0,73), 0,798 (0,73), 0,959 (3,60), 0,977 (3,69), 1,107 (0,73), 1,119 (0,75), 1,143 (0,66), 1,148 (0,47), 1,155 (0,63), 1,370 (1,30), 2,512 (16,00), 3,574 (8,95), 3,582 (8,85), 3,885 (0,64), 3,894 (1,26), 3,903 (0,72), 3,999 (0,49), 4,023 (0,47).

Ejemplo, 68A

Metil 3- (trimetilsilil)- *L*- alaninato



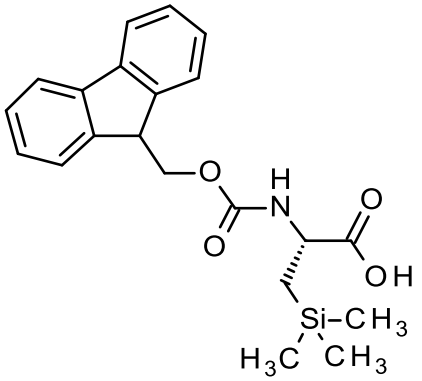
Se disolvió (2*R*, 5*R*)- 3,6- dimetoxi- 2- (propan- 2- il)- 5- [(trimetilsilil)metil]- 2,5- dihidropirazina (Ejemplo, 67A, 3,00 g, 11,1 mmol) en metanol (30 mL, 740 mmol) y la solución se enfrió a 0 °C. Se agregó ácido clorhídrico (10 mL, 10%) y la solución se agitó durante 2 horas. La solución se evaporó y el residuo se disolvió en una solución de DCM y carbonato de sodio (100 mL, 2,0 M, 200 mmol). La capa acuosa se extrajo con dos partes de DCM. El extracto en DCM se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (2% metanol: (1% N,N-dietiletanamina DCM)) para obtener 2,83 g (68% pureza, 99% rendimiento) del compuesto del título.

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ[ppm]: -0,010 (3,10), 0,008 (1,81), 0,736 (0,85), 0,759 (0,89), 0,772 (1,48), 0,795 (1,56), 0,803 (1,89), 0,820 (1,90), 0,841

(1,84), 0,858 (2,43), 0,875 (1,64), 0,900 (4,19), 0,911 (1,07), 0,918 (8,65), 0,936 (4,28), 1,682 (1,42), 2,384 (1,35), 2,402 (4,11), 2,420 (4,02), 2,438 (1,25), 3,088 (0,55), 3,102 (0,54), 3,302 (1,19), 3,306 (1,81), 3,321 (1,27), 3,330 (1,15), 3,345 (1,03), 3,583 (16,00), 3,591 (0,48), 3,605 (4,33), 5,742 (4,37).

Ejemplo, 69A

N- {[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 3- (trimetilsilil)- *L*- alanina



Se disolvió metil 3- (trimetilsilil)- *L*- alaninato (Ejemplo, 68A, 2,83 g, 68% pureza, 11,0 mmol) en metanol (44 mL) y la solución se enfrió a 0 °C. Se agregó una solución de hidróxido de sodio (11 mL, 1,0 M, 11 mmol) y la mezcla reactiva se agitó toda la noche a temperatura ambiente. Se agregó agua (40 mL), bicarbonato de sodio (922 mg, 11,0 mmol) y carbonato de sodio (1,53 g, 14,4 mmol). El metanol se eliminó a presión reducida y luego se agregó 1,4- dioxano (32 mL) a la solución acuosa. Esta solución se enfrió a 0 °C en un baño de hielo. Luego se agregó (9*H*- fluoren- 9- il)metil cloroformato (Fmoc- Cl) (4,26 g, 16,5 mmol) y la mezcla reactiva se agitó 5 horas a temperatura ambiente. Se agregó Fmoc- Cl adicional (1,42 g, 5,5 mmol) y la mezcla reactiva se agitó por otras 2 horas. Se agregaron partes iguales de agua y *ter*-butil metil éter a la mezcla reactiva. La fase acuosa se separó y se lavó adicionalmente con *ter*butil metil éter, luego se acidificó con ácido clorhídrico 1 M (pH 3-4). La mezcla acidificada se extrajo con tres partes de MTBE. La capa orgánica combinada se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se

concentró. El producto crudo se purificó por HPLC preparativa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 40 mm; eluyente: AcCN/H_2O con 0,1% HCOOH; caudal: 100 mL/min; gradiente: 0 - 5,50 minutos 10: 90; inyección de muestra a 3,00 minutos; 5,50 - 17,65 minutos a 95: 5; 17,65 - 19,48 minutos 95: 5; 19,48 - 19,66 minutos a 10: 90; 19,66 - 20,72 minutos 10:90;) para obtener 1,65 g (99% pureza, 39% rendimiento) del compuesto del título.

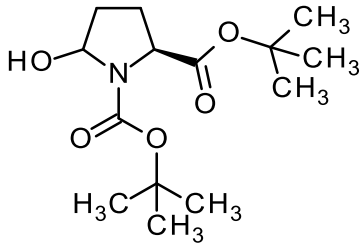
LC-MS (método 10): R_t = 2,20 minutos; MS (ESI pos): m/z = 384 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,006 (16,00), 0,987 (3,81), 1,006 (3,64), 3,309 (2,95), 3,950 (0,67), 3,970 (1,71), 3,991 (1,59), 4,010 (0,53), 4,182 (0,67), 4,199 (1,66), 4,217 (1,67), 4,228 (1,08), 4,253 (2,79), 4,268 (3,86), 4,287 (1,60), 4,293 (0,85), 4,313 (0,41), 7,286 (1,24), 7,291 (1,27), 7,293 (1,31), 7,302 (2,68), 7,304 (2,70), 7,309 (2,55), 7,321 (1,75), 7,323 (1,70), 7,328 (1,57), 7,389 (2,90), 7,408 (4,73), 7,426 (2,11), 7,566 (1,81), 7,587 (1,74), 7,697 (2,14), 7,714 (3,62), 7,731 (1,81), 7,872 (4,43), 7,891 (4,02), 12,451 (0,54).

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 70A

Di‑ *ter*butil (2*S*)‑ 5‑ hidroxipirrolidina‑ 1,2‑ dicarboxilato (mezcla de isómeros)

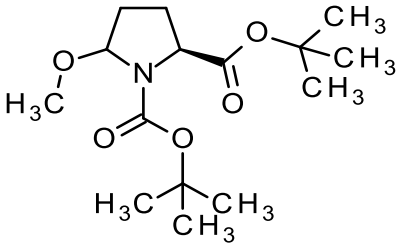


Di‑ *ter*butil (2*S*)‑ 5‑ oxopirrolidina‑ 1,2‑ dicarboxilato (CAS‑ RN: 91229‑ 91‑ 3, 21,0 g, 73,6 mmol) se disolvió en 250 mL THF y la solución se enfrió a ‑ 78 °C. Se agregó hidruro de diisobutil aluminio (160 mL, 1,0 M, 160 mmol) gota a gota y la mezcla se agitó 1 hora a ‑ 78 °C. Luego, la reacción se desactivó con 2‑ propanol (25 mL). Se agregó solución de (2R,3R)-2,3-dihidroxibutanodioato de potasio y sodio (200 mL), la mezcla se agitó a temperatura ambiente y luego

se diluyó con MTBE y agua. La capa acuosa se separó y extrajo adicionalmente con dos partes de agua. El extracto orgánico combinado se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y el residuo se concentró a presión reducida para obtener 19,53 g (79% pureza, 73% rendimiento) del compuesto del título como un aceite incoloro.

Ejemplo, 71A

Di- *ter*butil (2S,)- 5- metoxipirrolidina- 1,2- dicarboxilato (mezcla de isómeros)

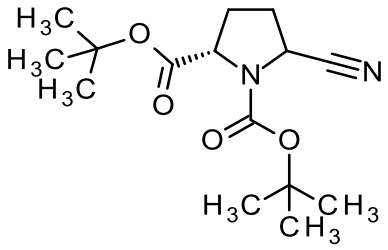


Se disolvió di- *ter*butil (2S)- 5- hidroxipirrolidina- 1,2- dicarboxilato (Ejemplo, 70A, 19,5 g, 67,9 mmol) en metanol (160 mL). Se agregó para- toluensulfonato de piridinio (341 mg, 1,36 mmol) a la solución y la mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró y el producto crudo se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (gradiente ciclohexano-acetato de etilo 7:3) para obtener 14,4 g (90% pureza, 64% rendimiento) del compuesto del título.

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,363 (9,51), 1,375 (8,10), 1,393 (2,67), 1,419 (16,00), 1,756 (0,58), 1,775 (0,93), 1,781 (0,88), 1,807 (0,46), 3,225 (3,77), 3,240 (1,93), 3,261 (2,02), 3,307 (4,01), 4,059 (0,64), 4,081 (0,82), 5,128 (0,56).

Ejemplo, 72A

Di- *ter*butil (2*S*)- 5- cianopirrolidina- 1,2- dicarboxilato (mezcla de isómeros)

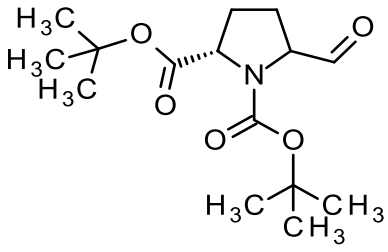


Se disolvió di- *ter*butil (2*S*,)- 5- metoxipirrolidin- 1,2- dicarboxilato (Ejemplo, 71A, 14,4 g, 47,8 mmol) en DCM (125 mL) y la solución se enfrió a - 40 °C. Se agregó trimetilsilil trifluorometano sulfonato (1,3 mL) (1% vol.), luego se agregó trimetilsilano carbonitrilo (7,0 mL, 53 mmol) gota a gota durante un período de 40 minutos. A continuación, la mezcla se agitó durante otra 1,5 hora a -40 °C. La mezcla reactiva se desactivó con metanol (19 mL) y luego se concentró para obtener 14,87 g (86% rendimiento) del compuesto del título.

GC-MS (GC-MS Método 1): 195,2 (M+-Boc), 139,1 (-Boc, -t-Bu)

Ejemplo, 73A

Di- *ter*butil (2*S*)- 5- formilpirrolidin- 1,2- dicarboxilato (mezcla de isómeros)



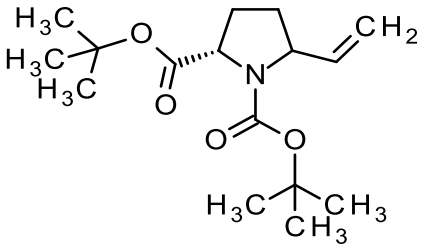
Se disolvió di- *ter*butil (2*S*)- 5- cianopirrolidin- 1,2- dicarboxilato (Ejemplo, 72A, 14,0 g, 47,2 mmol) en una mezcla de piridina (250 mL), ácido acético (130 mL) y agua (130 mL). Se agregó una suspensión acuosa de níquel Raney (70,0 g, 50% de pureza) y la mezcla se hidrogenó durante 7 horas a presión ambiente y a 80 °C. Luego, el catalizador se eliminó por filtración sobre una capa de tierra de diatomeas y el solvente se lavó con 250 mL de agua. La fase acuosa se extrajo tres veces con MTBE (650 mL). La capa orgánica combinada se lavó con

agua (tres veces) y con salmuera, se secó en sulfato de magnesio anhidro y luego se filtró. El filtrado se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía rápida en gel de sílice (gradiente ciclohexano-ciclohexano/acetato de etilo 7:3) para obtener 7,40 g (85% pureza, 44% rendimiento) de un aceite viscoso.

GC-MS (GC-MS Método 1): (M^+ - CO); (M+ - CO, - Boc)

Ejemplo, 74A

Di- *ter*butil (2S)- 5- etenilpirrolidin- 1,2- dicarboxilato (mezcla de isómeros)

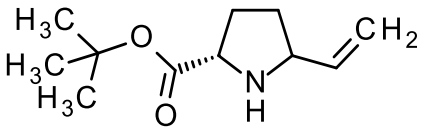


Se suspendió bromuro de metil(trifenil)fosfonio (17,7 g, 49,4 mmol) en 180 mL de THF. Se agregó una solución de bis(trimetilsilil)amida de potasio (1 M en tolueno, 75 mL, solución al 15%, 49 mmol) gota a gota a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. La mezcla se enfrió a - 78 °C. Se disolvió di- *ter*butil (2*S*)- 5- formilpirrolidin- 1,2- dicarboxilato (Ejemplo, 73A, 7,40 g, 24,7 mmol) en THF (60 mL). Se agregó la solución y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se vertió en una solución de (2R,3R)- 2,3- dihidroxibutanodioato de sodio y potasio (140 mL) y agua (85 mL) y se extrajo con tres partes de MTBE (210 mL). El extracto orgánico combinado se lavó con solución de cloruro de sodio, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (gradiente ciclohexano-ciclohexano/acetato de etilo 9:1) para obtener 4,25 g (100% pureza, 58% rendimiento) del compuesto del título.

GC-MS (GC-MS Método 1): Rt = 5,07 minutos, 5,17 minutos; 197,3 (M+-Boc)

Ejemplo, 75A

*ter*butil 5- vinil- L- prolinato (mezcla de isómeros)

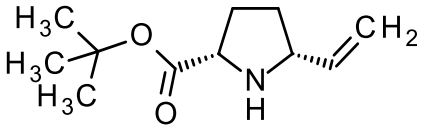


Se disolvió di- *ter*butil (2S)- 5- etenilpirrolidin- 1,2- dicarboxilato (Ejemplo, 74A, 4,25 g, 14,3 mmol) en 45 mL DCM y la solución se enfrió a 0 °C. Se agregó trimetilsilil trifluorometano sulfonato (2,6 mL, 14 mmol) gota a gota y la mezcla resultante se agitó 5 minutos a 0 °C. La reacción se desactivó con solución acuosa concentrada de bicarbonato de sodio (21 mL) y se extrajo con dos partes de DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y luego se concentraron. El producto crudo se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (gradiente metanol-diclorometano 100:2) para obtener 2,09 g (100% pureza, 74% rendimiento) del compuesto del título.

GC-MS (GC-MS Método 1): Rt = 3,37 minutos, 3,50 minutos; 197,3 (M+)

Ejemplo, 76A

*ter*butil (5*R*)- 5- etenil- *L* - prolinato (estereoisómero simple)



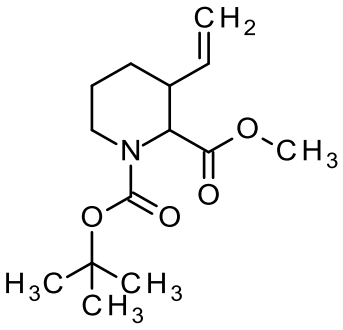
La separación isomérica de *ter*butil- 5- etenil- *L*- prolinato (mezcla diastereomérica) (Ejemplo, 75A, 2,55 g, 12,9 mmol) mediante cromatografía rápida en gel de sílice (gradiente ciclohexano-acetato de etilo-trimetilamina [70:30:1]) produjo 1,35 g (100% pureza, 53% rendimiento) del compuesto del título.

GC-MS (GC-MS Método 1): Rt = 3,50 minutos; 197,3 (M+)

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,3-1,4 (1H), 1,40 (9H), 2,4 (1H), 3,5 (2H), 4,9 (1H), 5,15 (1H), 5,8 (1H).

Ejemplo, 77A

1- *ter*butil 2- metil- 3- etenilpiperidin- 1,2- dicarboxilato (mezcla de isómeros)



Una solución de bromuro de etenilmagnesio (39 mL, 0,70 M, 27 mmol) en THF anhidro (20 mL) se enfrió a -35 °C y luego se agregó una solución de bromuro de cobre (I)-sulfuro de dimetilo (1:1) (741mg, 3,61 mmol). La mezcla reactiva se agitó durante 1 hora a - 35 °C. Se agregó una solución de 1- *ter*butil 2- metil 5,6- dihidropiridin- 1,2(4*H*)- dicarboxilato (CAS- RN: 155905-80-9, 4,35 g, 18,0 mmol) en THF (10 mL) a la mezcla; luego, la mezcla reactiva se agitó durante 6 horas a -35 °C. La mezcla se desactivó con una mezcla de cloruro de amonio acuoso (85 mL) y amoníaco acuoso (85 mL) y se extrajo con dos partes de MTBE (285 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron en secuencia con cloruro de amonio acuoso (570 mL) y salmuera (570 mL), secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y luego se concentraron. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente: ciclohexano/acetato de etilo [2%-20%]) para obtener 1,59 g del compuesto del título (100% pureza, 33% rendimiento).

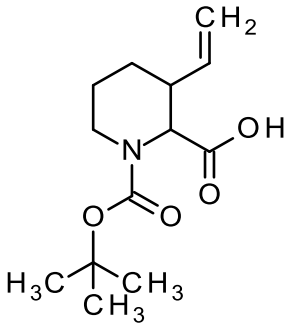
LC-MS (método 12): R_t = 3,33 minutos; MS (ESI pos): m/z = 270 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,038 (0,51), 1,087 (0,77), 1,382 (16,00), 1,419 (0,83), 1,429 (0,59), 1,448 (0,73), 1,459 (0,80), 1,466 (0,54), 1,479 (1,01), 1,485 (1,09), 1,496 (0,73), 1,502 (0,66), 1,506 (0,59), 1,514 (0,47), 1,532 (0,47), 1,544 (0,42), 1,600 (0,64), 1,627 (0,61), 2,899 (0,88), 3,690

(13,11), 3,817 (0,47), 3,849 (0,45), 5,120 (2,03), 5,148 (0,90), 5,164 (1,49), 5,869 (0,57).

Ejemplo, 78A

Ácido 1- (*ter*butoxicarbonil)- 3- etenilpiperidin- 2- carboxílico (mezcla de isómeros)

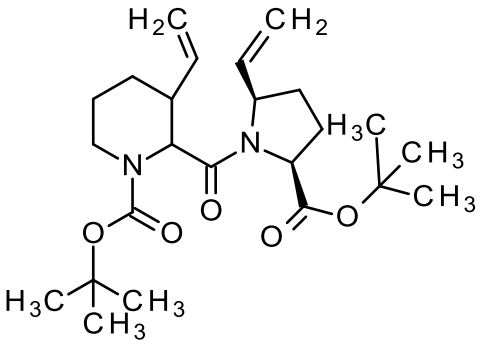


Se disolvió 1- *ter*butil 2- metil 3- etenilpiperidin- 1,2- dicarboxilato (Ejemplo, 77A, 1,59 g, 5,90 mmol) en una mezcla de metanol (5,9 mL) y THF (17,7 mL). Se agregó una solución de hidróxido de litio (5,9 mg, 2,0 M, 12 mmol) y la mezcla se agitó 5 horas a 50 °C. Luego, se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se lavó con MTBE (7,5 mL), se enfrió a 0 °C, se acidificó con ácido clorhídrico 1 M (14,5 mL) y luego se extrajo cinco veces con DCM (15 mL). El extracto orgánico combinado se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró para obtener 1,39 g (100% pureza, 92% rendimiento) del compuesto del título.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,381 (16,00), 1,423 (0,70), 1,434 (0,57), 1,455 (0,77), 1,465 (1,32), 1,473 (0,93), 1,488 (1,66), 1,495 (1,29), 1,519 (0,46), 1,530 (0,40), 1,608 (0,80), 1,632 (0,75), 2,911 (0,96), 3,815 (0,50), 3,842 (0,47), 5,113 (1,95), 5,140 (0,73), 5,156 (1,59), 5,753 (0,50), 5,874 (0,51), 12,910 (0,69).

Ejemplo, 79A

*Ter*butil 2- {[(2*S*, 5*R*)- 2- (*ter*butoxicarbonil)- 5- vinilpirrolidin- 1- il]carbonil}- 3- vinilpiperidin- carboxilato (mezcla de isómeros)



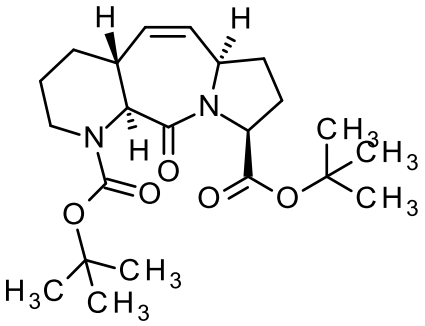
Se disolvió ácido 1- (*ter*butoxicarbonil)- 3- etenilpiperidin- 2- carboxílico (racemato) (Ejemplo, 78A, 1,35 g, 5,30 mmol) y *ter*butil (5*R*)- 5- etenil- *L* - prolinato (Ejemplo, 76A, 950 mg, 4,82 mmol) en acetonitrilo (60 mL). Se agregó N,N- diisopropiletilamina (2,5 mL, 14 mmol) y la mezcla reactiva se enfrió a 0 °C. Se agregó una solución de hexafluorofosfato de 1*H*- benzotriazol- 1- iloxi)(tripirrolidin- 1- il)fosfonio (3,26 g, 6,26 mmol) en acetonitrilo (30 mL) a la mezcla y se la agitó durante 20 horas a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró, se volvió a disolver en MTBE y se lavó con agua. La fase acuosa se volvió a extraer con MTBE. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo [85:15]) para obtener 2,03 g del compuesto del título (88% rendimiento).

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (0,60), 1,373 (10,15), 1,392 (16,00), 1,396 (14,53), 1,458 (0,57), 1,489 (0,46), 1,763 (0,46), 1,780 (0,56), 2,105 (0,42), 2,122 (0,42), 2,524 (0,41), 5,050 (0,44), 5,090 (0,70), 5,116 (0,79), 5,754 (1,04).

Ejemplo, 80A

Di- *ter*butil

(4*aR*,6*aR*,9*S*,11*aS*)- 11- oxo- 2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a- decahidro- 1*H*- pirido[3,2- e]pirrolo[1,2- a]azepin- 1,9- dicarboxilato (estereoisómero simple)



Se disolvió *ter*butil 2- {[(2*S*,5*R*)- 2- (*ter*butoxicarbonil)- 5- vinilpirrolidin- 1- il]carbonil}- 3- vinilpiperidin- carboxilato (Ejemplo, 79A, 2,00 g, 4,60 mmol) en DCM (100 mL) y se agregó [1,3- bis(2,4,6- trimetilfenil)imidazolidin- 2- iliden](dicloro)(fenilmetiliden)rutenio- triciclohexilfosfano (1:1) (781 mg, 920 µmol). La mezcla reactiva se agitó durante 48 horas a reflujo, luego se enfrió a temperatura ambiente. Se agregó DMSO (2,0 mL) y la mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró y el producto crudo se purificó por cromatografía rápida en gel de sílice (ciclohexano-acetato de etilo [25%-50%]) para obtener 805 mg (99% pureza, 42% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 1,12 minutos; MS (ESI pos): m/z = 407 $[M+H]^+$

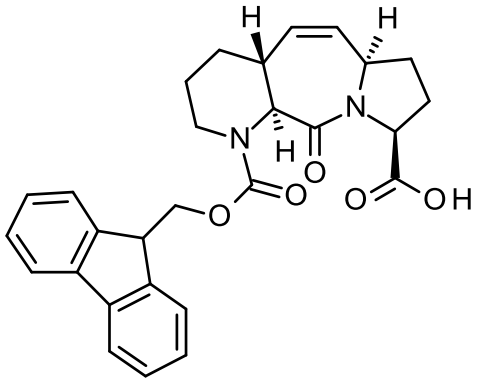
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,296 (5,30), 1,361 (16,00), 1,378 (2,93), 5,540 (0,72), 5,562 (0,51).

Ejemplo, 81A

Ácido

(4*aR*,6*aR*,9*S*,11*aS*)- 1- {[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 11- oxo- 2,3,4,4a

,6a,7,8,9,11,11a- decahidro- 1H- pirido[3,2- *e*]pirrolo[1,2- *a*]azepin- 9- carboxílico (estereoisómero simple)



Se disolvió di- *ter*butil- (4*aR*,6*aR*,9*S*,11*aS*)- 11- oxo- 2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a- decahidro- 1*H*- pirido[3,2- e]pirrolo[1,2- a]azepin- 1,9- dicarboxilato (Ejemplo, 80A, 800 mg, 1,97 mmol) en 8 mL DCM y la solución se enfrió a 0 °C. Se agregó ácido trifluoroacético (8,0 mL, 100 mmol) y la mezcla reactiva se agitó 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró y el residuo se diluyó con solución de bicarbonato de sodio (20 mL, pH=8). Se agregó una solución de (9*H*- fluoren- 9- il)metil cloroformato (CAS- RN: 28920-43-6, 764 mg, 2,95 mmol) en THF (24 mL) y la mezcla reactiva se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se diluyó con DCM (100 mL) y se acidificó con ácido clorhídrico 1 M (40 mL) (pH=1). La solución se extrajo dos veces con DCM (50 mL) y el extracto orgánico combinado se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró. La purificación del producto crudo mediante cromatografía en columna con gel de sílice (DCM/MeOH 95/5) produjo 676 mg del compuesto del título (100% pureza, 73% rendimiento).

LC-MS (método 10): R_t = 1,86 minutos; MS (ESI pos): m/z = 473 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (2,87), 0,008 (2,54), 0,778 (0,66), 0,800 (1,51), 0,808 (1,58), 0,832 (2,85), 0,856 (1,93), 0,865 (2,01), 0,889 (0,79), 1,125 (0,77), 1,157 (1,38), 1,182 (0,90), 1,215 (0,50), 1,235 (1,06), 1,517

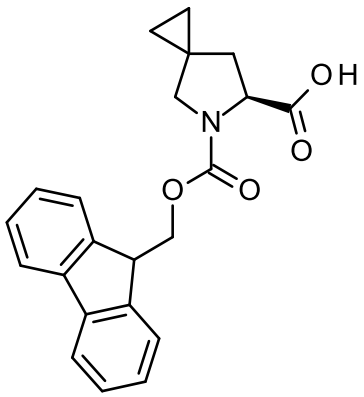
(2,61), 1,538 (3,44), 1,563 (6,49), 1,593 (6,17), 1,610 (5,67), 1,636 (4,98), 1,660 (3,92), 1,684 (2,46), 1,719 (2,25), 1,747 (2,01), 1,846 (4,49), 1,858 (7,62), 1,868 (6,96), 1,901 (3,19), 2,010 (0,57), 2,073 (9,83), 2,189 (2,95), 2,200 (3,74), 2,241 (3,30), 2,276 (2,71), 2,307 (1,21), 2,327 (1,10), 2,366 (0,52), 2,398 (0,80), 2,428 (1,41), 2,456 (0,84), 2,670 (0,63), 2,710 (0,50), 2,816 (1,60), 2,833 (1,66), 2,849 (2,51), 2,862 (2,28), 2,877 (2,34), 2,895 (1,47), 3,040 (0,69), 3,075 (1,10), 3,086 (1,04), 3,101 (1,03), 3,121 (0,69), 3,690 (1,24), 3,724 (4,64), 3,744 (6,62), 3,756 (6,47), 3,777 (4,44), 3,823 (8,20), 3,852 (7,84), 4,120 (4,36), 4,137 (4,86), 4,148 (4,24), 4,191 (3,57), 4,202 (7,64), 4,212 (4,19), 4,261 (1,02), 4,276 (2,33), 4,291 (4,52), 4,316 (4,20), 4,328 (5,37), 4,346 (4,61), 4,370 (3,31), 4,383 (5,08), 4,395 (4,54), 4,411 (5,53), 4,422 (5,83), 4,456 (3,22), 4,595 (1,63), 4,761 (4,95), 4,773 (5,04), 4,788 (4,59), 4,800 (4,19), 5,364 (2,72), 5,393 (7,67), 5,422 (7,48), 5,451 (2,73), 5,510 (0,98), 5,540 (4,23), 5,553 (4,14), 5,585 (0,91), 7,282 (3,12), 7,300 (7,84), 7,319 (10,54), 7,337 (13,57), 7,355 (9,71), 7,366 (2,95), 7,377 (5,06), 7,399 (12,17), 7,420 (16,00), 7,438 (6,68), 7,521 (8,10), 7,539 (6,98), 7,613 (12,53), 7,631 (11,16), 7,646 (3,71), 7,665 (3,16), 7,847 (8,31), 7,865 (15,04), 7,884 (10,42), 7,908 (4,87), 12,429 (2,52).

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Ejemplo, 82A

Ácido

(6*S*)- 5- {[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 5- azaspiro[2.4]heptan- 6- carboxílico



Se disolvió ácido (6*S*)-5-azaspiro[2.4]heptan-6-carboxílico (CAS-RN: 152723-57-4, 1,38 g, 9,79 mmol) en agua (14 mL) y se agregó bicarbonato de sodio (8,23 g, 97,9 mmol). Luego se agregó una solución de 1-({[(9*H*-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin-2,5-diona (CAS-RN:82911-69-1, 3,47 g, 10,3 mmol) en acetona (21 mL) y la mezcla se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se diluyó con agua y se extrajo dos veces con MTBE. La capa acuosa se acidificó a pH 3-4 con ácido clorhídrico 1 M y luego se extrajo tres veces con DCM. La fase orgánica combinada se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró para obtener 3,3 g (100% pureza, 93% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 1,04 minutos; MS (ESI pos): m/z = 364 $[M+H]^+$

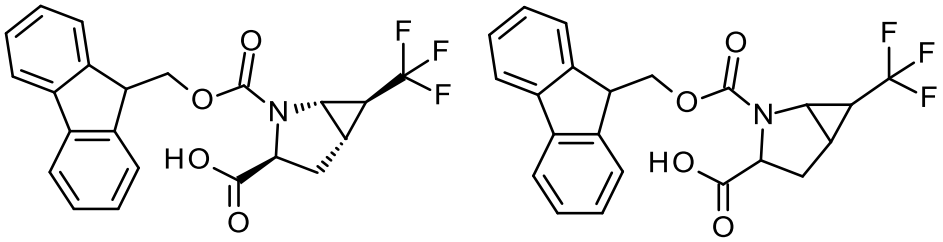
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,497 (1,67), 0,510 (2,34), 0,527 (5,55), 0,559 (3,82), 0,567 (5,51), 0,590 (9,33), 0,598 (11,21), 0,619 (1,87), 0,636 (0,58), 1,106 (9,23), 1,714 (2,14), 1,723 (2,15), 1,745 (2,40), 1,755 (2,50), 1,764 (1,94), 1,772 (1,85), 1,796 (2,02), 1,804 (1,93), 2,086 (7,36), 2,280 (2,12), 2,301 (2,47), 2,311 (2,21), 2,333 (2,24), 2,390 (1,75), 2,412 (2,07), 2,421 (1,87), 2,443 (1,71), 2,524 (0,88), 2,594 (3,10), 3,076 (2,73), 3,219 (3,24), 3,245 (4,13), 3,283 (3,41), 3,309 (5,19), 3,385 (5,05), 3,403 (4,32), 3,410 (3,56), 3,429 (3,16), 3,747 (1,01), 4,160 (0,68), 4,175 (1,57), 4,187 (3,09), 4,192 (3,69), 4,209 (6,08), 4,218 (4,18), 4,224 (3,09), 4,237 (2,43), 4,247 (1,22), 4,254 (2,15), 4,272 (16,00), 4,284 (3,83), 4,297 (4,75), 4,306 (2,72), 4,427 (2,10), 4,435 (2,31), 4,449 (2,34), 4,457 (2,02), 5,754 (0,45), 7,301 (1,47), 7,318 (5,18), 7,320 (5,43), 7,325 (2,74), 7,336 (7,24), 7,339 (7,37), 7,344 (4,81), 7,348 (3,25), 7,352 (3,50), 7,354 (3,84), 7,357 (3,67), 7,403 (9,03), 7,422 (14,80), 7,440 (6,64), 7,640 (8,10), 7,647 (7,82), 7,658 (7,43), 7,666 (6,87), 7,884 (10,09), 7,902 (9,58).

Este aminoácido se usó en Fmoc SPPS.

Este Fmoc-aminoácido se preparó también a partir del ácido (6S)-5-azaspiro[2.4]heptan-6-carboxílico preparado en el Ejemplo, 124A.

Ejemplo, 83A

Ácido (1*S*,3*S*,5*S*,6*S*)- 2- {[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 6- (trifluorometil)- 2- azabiciclo[3.1.0]hexan- 3- carboxílico y ácido rel- (1*R*,3*R*,5*R*,6*R*)- 2- {[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}- 6- (trifluorometil)- 2- azabiciclo[3.1.0]hexan- 3- carboxílico



Se disolvió ácido (1*s*, 3*s*, 5*s*, 6*s*)- 6- (trifluorometil)- 2- azabiciclo[3.1.0]hexan- 3- carboxílico (450 mg, 2,31 mmol) en agua (6 mL) y se agregó bicarbonato de sodio (1,94 g, 23,1 mmol). Luego, se agregó una solución de 1- ({[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin- 2,5- diona (CAS- RN: 82911-69-1, 817 mg, 2,42 mmol) en acetona (9 mL) y la suspensión resultante se agitó toda una noche a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se diluyó con agua y se extrajo dos veces con MTBE. La capa acuosa se acidificó a pH 3-4 con ácido clorhídrico 1 M y luego se extrajo tres veces con DCM. La fase orgánica combinada se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó por HPLC preparativa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 40 mm; solvente: AcCN/H_2O que contiene 0,1% HCOOH; caudal: 100 mL/min; gradiente: 0 - 5,50 minutos 10: 90; inyección de muestra a 3,00 minutos; 5,50 - 17,65 minutos gradiente a 95: 5; 17,65 - 19,48 minutos a 95: 5; 19,48 - 19,66 minutos a 10: 90; 19,66 - 20,72 minutos 10:90) para obtener 571 g (96% pureza, 57% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 1,06 minutos; MS (ESI pos): m/z = 418 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 2,073 (0,99), 2,203 (4,88), 2,345 (2,00), 2,366 (1,94), 3,755 (2,94), 4,078 (1,74), 4,221 (1,50), 4,253 (4,04), 4,270 (5,55), 4,290 (4,95), 4,337 (2,21), 7,293 (3,93), 7,301 (4,07), 7,312 (9,32), 7,319 (8,88), 7,330 (6,19), 7,337 (5,57), 7,407 (9,40), 7,425 (16,00), 7,444 (7,29), 7,695 (5,70), 7,887 (13,98), 7,906 (12,87), 12,866 (0,63).

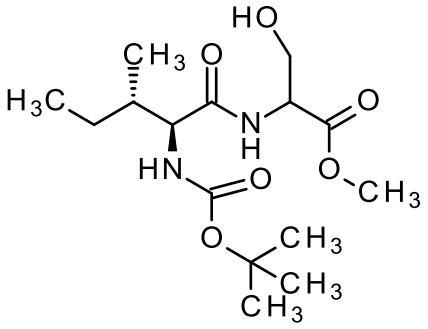
La sustancia también está comercialmente disponible (CAS RN: 1986905-54-7)

El aminoácido racémico ácido rel-(1*R*, 3*R*, 5*R*, 6*R*)-6-(trifluorometil)-2-azabiciclo[3.1.0]hexan-3-aminoácido (enamina) se preparó de manera similar.

Estos aminoácidos se usaron en SPPS.

Ejemplo, 84A

Metil *N*-(*ter*butoxicarbonil)-*L*-isoleucilserinato (mezcla de diastereómeros)



Se disolvió *N*-(*ter*butoxicarbonil)-*L*-isoleucina (7,50 g, 32,4 mmol) y metil D*L*-serinato—cloruro de hidrógeno (1/1) (5,05 g, 32,4 mmol) en diclorometano (65 mL). Se agregó hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio (14,9 g, 33,6 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (11 mL, 65 mmol) y la mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. Se agregó diclorometano (250 mL) y la mezcla reactiva se lavó en secuencia con agua, ácido clorhídrico acuoso (1 M) y solución acuosa de bicarbonato de sodio. El extracto orgánico combinado se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se disolvió en DCM y se lavó cuidadosamente con agua, dos veces con ácido

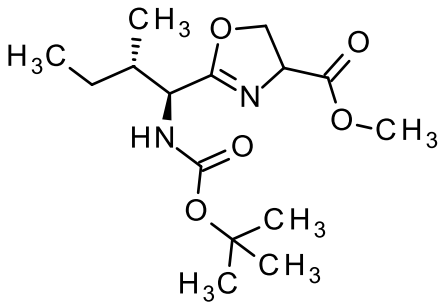
clorhídrico acuoso (1 M) y luego dos veces más con bicarbonato de sodio acuoso. A continuación, la fase orgánica combinada se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se utilizó directamente para el paso siguiente.

LC-MS (método 11): 355,2 (M^+Na^+)

Ejemplo, 85A

Metil

2- {(1*S*,2*S*)- 1- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- metilbutil}- 4,5- dihidro- 1,3- oxazol- 4- carboxilato (mezcla de diastereómeros)



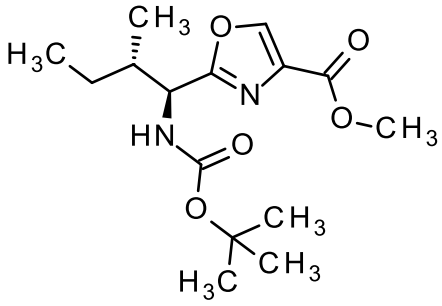
Se disolvió metil *N*- (*ter*butoxicarbonil)- *L*- isoleucilserinato (Ejemplo, 84A, 4,62 g, 13,9 mmol) en diclorometano (51 mL) y la solución se enfrió a - 78 °C. Se agregó *N*- etil- *N*- (trifluoro- lambda^4- sulfanil)etanamina (2,2 mL, 17 mmol) y la mezcla reactiva se agitó a - 78 °C durante 1,5 horas. La reacción se desactivó con carbonato de potasio (7,68 g, 55,6 mmol) y luego se dejó enfriar a temperatura ambiente. La solución se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Luego, la solución se diluyó con DCM (50 mL) y se lavó tres veces con solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. La fase acuosa se volvió a extraer con DCM. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró para obtener 5,75 g del producto deseado.

LC-MS (método 11): 315,2 (M^+H^+), 337,2 (M^+Na^+)

Ejemplo, 86A

Metil

2- {(1*S*,2*S*)- 1- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- metilbutil}- 1,3- oxazol- 4- carboxilato



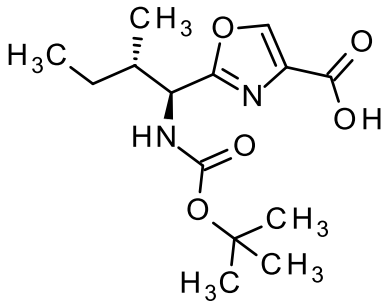
Se disolvió metil 2- {(1*S*,2*S*)- 1- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- metilbutil}- 4,5- dihidro- 1,3- oxazol- 4- carboxilato (Ejemplo, 85A, 4,37 g, 13,9 mmol) en diclorometano (35 mL, 540 mmol) y la solución se enfrió a - 40 °C. Se agregó bromo(tricloro)metano (2,7 mL, 27 mmol) y luego 2,3,4,6,7,8,9,10- octahidropirimido[1,2- a]azepina (4,6 mL, 31 mmol). La solución reactiva se agitó durante 2,5 horas a 0 °C y luego se diluyó con DCM. La mezcla reactiva se lavó cinco veces con una solución de ácido cítrico al 10%. La capa acuosa combinada se extrajo con DCM. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (gradiente: ciclohexano/acetato de etilo [4:1]) para obtener 2,2 g del compuesto del título (50,7% rendimiento).

LC-MS (método 10): 335,15 (M^+Na^+)

Ejemplo, 87A

Ácido

2- {(1*S*,2*S*)- 1- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- metilbutil}- 1,3- oxazol- 4- carboxílico

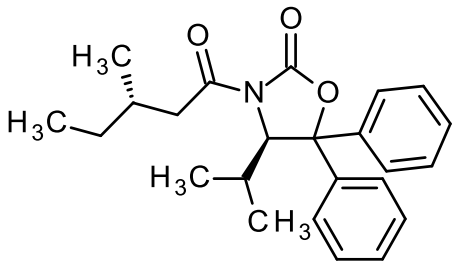


Se disolvió metil 2- {(1*S*,2*S*)- 1- [(*ter*butoxicarbonil)amino]- 2- metilbutil}- 1,3- oxazol- 4- carboxilato (Ejemplo, 86A, 2,21 g, 7,06 mmol) en metanol (13,5 mL). Se agregó solución acuosa de hidróxido de sodio (4,3 mL, 3 M) y la mezcla reactiva se agitó durante 40 minutos y luego se concentró para eliminar el metanol. La solución acuosa se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 M (14 mL) y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró a presión reducida para obtener 12,0 mg (95% pureza, 51% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (MCW_OA_S1): R_t = 1,13 minutos; MS (ESI neg): m/z = 297 $[M+H]^-$

Ejemplo, 88A

(4R)- 3- [(3S)- 3- metilpentanoil]- 5,5- difenil- 4- (propan- 2- il)- 1,3- oxazolidin- 2- ona



Se enfrió una solución de ácido (3S)- 3- metilpentanoico (867 mg, 7,46 mmol) en THF anhidro (50 mL) a - 30 °C. Se agregó 2,2- dimetilpropanoil cloruro (920 µL, 7,5 mmol) gota a gota y la mezcla reactiva se agitó durante 1,5 horas

a - 30 °C. Se agregó cloruro de litio seco (347 mg, 8,17 mmol) y (4R)- 5,5- difenil- 4- (propan- 2- il)- 1,3- oxazolidin- 2- ona (2,00 g, 7,11 mmol) ((R)- DIOZ) en secuencia y se dejó que la mezcla reactiva lentamente se enfriara a temperatura ambiente, luego se agitó toda una noche. La mezcla reactiva se diluyó con acetato de etilo y agua. La capa acuosa se separó y extrajo con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo combinada se lavó con solución acuosa de cloruro de sodio, se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró para obtener 2,87 g de un sólido blanco. El producto crudo se disolvió en DCM con una pequeña cantidad de metanol y se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice (Biotage Isolera, cartucho de 50 g) con ciclohexano/acetato de etilo (8020) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron, se concentraron y se secaron para obtener 2,25 g (98% pureza, 82% rendimiento) del compuesto objetivo.

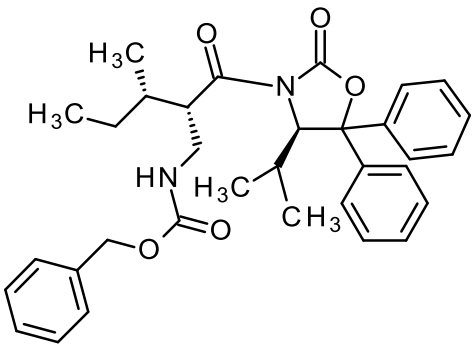
LC-MS (método 10): R_t = 2,69 minutos; MS (ESI pos): m/z = 380 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,616 (13,33), 0,633 (13,58), 0,650 (7,84), 0,660 (16,00), 0,668 (15,61), 0,676 (15,27), 0,686 (7,40), 0,719 (0,40), 0,875 (12,87), 0,893 (12,59), 0,940 (0,92), 0,958 (1,50), 0,975 (2,08), 0,993 (2,23), 1,011 (1,38), 1,028 (0,84), 1,045 (1,41), 1,061 (1,93), 1,079 (1,89), 1,095 (1,16), 1,112 (0,62), 1,541 (0,55), 1,557 (1,29), 1,574 (1,91), 1,590 (1,82), 1,607 (1,10), 1,623 (0,40), 2,020 (0,71), 2,036 (1,44), 2,049 (1,78), 2,065 (1,28), 2,082 (0,50), 2,449 (2,60), 2,468 (2,84), 2,755 (2,63), 2,771 (2,50), 2,793 (2,05), 2,808 (1,92), 5,557 (5,98), 5,563 (5,64), 7,271 (2,61), 7,289 (6,37), 7,307 (5,02), 7,352 (5,04), 7,368 (10,74), 7,385 (9,60), 7,403 (3,47), 7,557 (8,45), 7,577 (6,54), 7,639 (8,45), 7,659 (6,92).

Ejemplo, 89A

Bencil

{(2S,3S)- 3- metil- 2- [(4R)- 2- oxo- 5,5- difenil- 4- (propan- 2- il)- 1,3- oxazolidin- 3- carbonil]pentil}carbamato



Se siguió el procedimiento establecido en la bibliografía (Sebesta and Seebach, *Helv. Chim. Acta* **2003**, *86*, 4061-4072). Se disolvió (4R)‑ 3‑ [(3S)‑ 3‑ metilpentanoil]‑ 5,5‑ difenil‑ 4‑ (propan‑ 2‑ il)‑ 1,3‑ oxazolidin‑ 2‑ ona (Ejemplo, 88A, 2,20 g, 5,80 mmol) en DCM (20 mL) y la solución se enfrió a ‑ 15 °C. Se agregó una solución de cloruro de titanio (IV) (6,1 mL, 1,0 M en DCM, 6,1 mmol) gota a gota manteniendo la temperatura a ‑ 15 °C. Luego se agregó trietilamina (890 µl, 6,4 mmol) y la mezcla reactiva se agitó durante 30 minutos a -15 °C.

En un balón de destilación aparte, se enfrió una solución de bencil (metoximetil)carbamato (1,24 g, 6,38 mmol, CAS RN: 94471-35-9) en DCM (10 mL) a 0 °C. Se agregó una solución de cloruro de titanio (IV) (6,4 mL, 1,0 M en DCM, 6,4 mmol) gota a gota; luego, toda la solución se agregó gota a gota al matraz que contenía (4r)‑ 3‑ [(3s)‑ 3‑ metilpentanoil]‑ 5,5‑ difenil‑ 4‑ (propan‑ 2‑ il)‑ 1,3‑ oxazolidin‑ 2‑ ona. La mezcla reactiva se agitó durante 4 horas a 0 °C, luego se dejó reposar toda una noche a temperatura ambiente. La reacción se desactivó con el agregado de solución acuosa de cloruro de amonio y luego se diluyó con DCM adicional. La capa orgánica separada se lavó con solución acuosa de HCl 1 M, solución acuosa de NaOH 1 M y por último con solución acuosa de cloruro de sodio. La capa orgánica se filtró y luego se concentró para obtener 3,39 g de un aceite amarillo. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna con gel de sílice (Biotage Isolera, cartucho de 100 g) con ci-

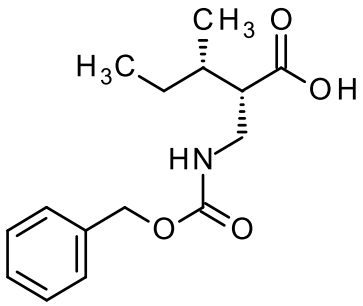
clohexano/acetato de etilo (85:15) como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron, se concentraron y se secaron para obtener 1,50 g (96% pureza, 46% rendimiento, selectividad) del compuesto objetivo con una diastereoselectividad del 96,3% (96% según la bibliografía).

LC-MS (método 10): R_t = 2,63 minutos; MS (ESI pos): m/z = 543 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,429 (3,22), 0,446 (3,32), 0,480 (1,44), 0,498 (3,18), 0,516 (1,79), 0,595 (4,27), 0,611 (4,65), 0,643 (0,49), 0,663 (0,46), 0,768 (0,45), 0,786 (0,46), 0,874 (3,86), 0,891 (4,01), 1,098 (0,48), 1,397 (16,00), 1,993 (0,45), 2,010 (0,57), 2,023 (0,45), 3,146 (0,44), 3,169 (0,66), 3,180 (1,02), 3,192 (0,63), 3,206 (0,44), 3,222 (0,53), 3,243 (0,48), 3,816 (0,57), 4,920 (0,59), 4,952 (1,85), 4,978 (2,04), 5,010 (0,65), 5,539 (1,70), 5,544 (1,73), 7,187 (0,53), 7,201 (0,87), 7,282 (3,41), 7,289 (5,28), 7,306 (4,14), 7,322 (1,84), 7,342 (2,69), 7,362 (3,73), 7,385 (3,47), 7,405 (1,52), 7,566 (3,08), 7,584 (2,46), 7,662 (2,88), 7,681 (2,48).

Ejemplo, 90A

Ácido (2S,3S)- 2- ({[(benciloxi)carbonil]amino}metil)- 3- metilpentanoico



Se preparó una solución de {(2S,3S)- 3- metil- 2- [(4R)- 2- oxo- 5,5- difenil- 4- (propan- 2- il)- 1,3- oxazolidin- 3- carbonil]pentil}carbamato (Ejemplo, 89A, 1,49 g, 2,75 mmol) en THF (15 mL). Se agregó una solución de LiOH (105 mg, 4,39 mmol) en agua (5 mL) y la mezcla reactiva se agitó 24 horas a temperatura ambiente. El análisis por HPLC indicó que la reacción no estaba completa, por lo que se agregó un equi-

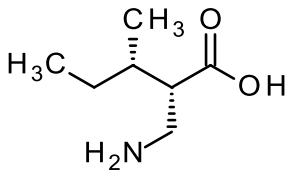
valente adicional de LiOH (65,8 mg, 2,75 mmol) en agua (3 mL). La mezcla reactiva se agitó a temperatura ambiente toda una noche. La mezcla reactiva se diluyó con dietiléter, se agitó durante 5 minutos y luego se filtró. La torta del filtro se lavó con agua y con éter, luego las capas se separaron. La capa acuosa se acidificó a pH 1 con solución acuosa de HCl 1 M y luego se extrajo tres veces con dietiléter. La fase de éter combinada se lavó con solución de cloruro de sodio, se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró. Tras el secado en alto vacío, se obtuvieron 715 mg (100% pureza, 93% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 10): R_t = 1,71 minutos; MS (ESI pos): m/z = 280 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,837 (6,34), 0,856 (14,23), 0,863 (13,72), 0,880 (12,65), 1,098 (0,91), 1,117 (1,35), 1,133 (1,47), 1,151 (1,49), 1,170 (0,95), 1,348 (0,42), 1,367 (1,02), 1,380 (1,33), 1,398 (1,53), 1,414 (1,09), 1,431 (0,72), 1,596 (0,82), 1,611 (1,42), 1,627 (1,61), 1,644 (1,16), 1,660 (0,53), 1,908 (3,41), 2,396 (1,17), 2,413 (2,79), 2,429 (2,67), 2,445 (1,07), 2,501 (16,00), 3,139 (4,27), 3,155 (7,41), 3,171 (4,60), 5,000 (15,52), 7,221 (1,46), 7,234 (2,66), 7,248 (1,41), 7,283 (0,89), 7,290 (0,97), 7,300 (2,98), 7,318 (5,22), 7,332 (11,34), 7,339 (12,29), 7,356 (5,30), 7,375 (1,45), 12,135 (3,58).

Ejemplo, 91A

Ácido (2s,3s)- 2- (aminometil)- 3- metilpentanoico



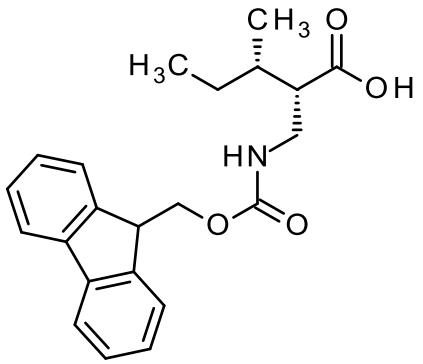
Se pesaron 100 mg de paladio sobre carbono 10% en un balón de destilación al que se lo irrigó con argón. Se agregó una solución de ácido (2S,3S)- 2- ({[(benziloxi)carbonil]amino}metil)- 3- metilpentanoico (Ejemplo, 90A, 710 mg, 2,54 mmol) en metanol (40 mL) y la mezcla reactiva se agitó a temperatura ambiente bajo presión normal de gas H_2. El análisis por HPLC indicó que luego de 2 horas a temperatura ambiente, la reacción se completó. Se

filtró la mezcla reactiva a través de un tapón de gel de sílice y la torta del filtro se lavó varias veces con metanol. El filtrado combinado se concentró a presión reducida para obtener 345 mg (93%) del compuesto del título. El compuesto se utilizó directamente para el paso siguiente.

Ejemplo, 92A

Ácido

(2*S*,3*S*)- 2- [({[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}amino)metil]- 3- metilpentanoico



Se disolvió ácido (2*S*,3*S*)- 2- (aminometil)- 3- metilpentanoico (Ejemplo, 91A, 344 mg, 2,37 mmol) en una solución acuosa de carbonato de sodio (32 mL, 0,15 M, 4,7 mmol). Se disolvió 1- ({[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin- 2,5- diona (959 mg, 2,84 mmol) en acetona (30 mL) y esta solución se agregó a la solución anterior. La mezcla reactiva se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla reactiva se concentró para eliminar la acetona. La solución acuosa se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa acuosa se acidificó a pH 3-4 con ácido clorhídrico acuoso 1 M y luego se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se concentraron. El producto crudo se purificó por HPLC preparativa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 30 mm; solventes: AcCN/H_2O que contiene 0,1% HCOOH; caudal: 75 mL/min; gradien-

te: 0 - 5,50 minutos (10:90); inyección de muestra a los 3,00 minutos; 5,50 - 17,65 minutos gradiente a 95:5; 17,65 - 19,48 minutos (95:5); 19,48 - 19,66 minutos gradiente a 10:90; 19,66 - 20,72 minutos (10:90) para obtener 795 mg (96% pureza, 88% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 1,06 minutos; MS (ESI pos): m/z = 368 $[M+H]^+$

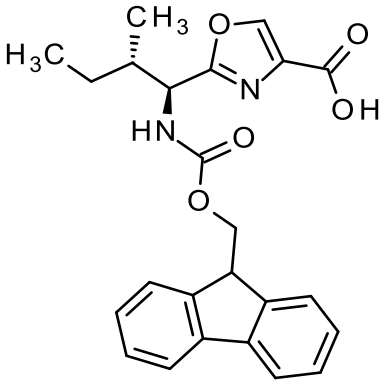
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (1,04), 0,008 (0,54), 0,752 (0,73), 0,841 (7,69), 0,860 (16,00), 0,870 (15,28), 0,878 (10,54), 0,887 (13,22), 1,085 (0,41), 1,103 (0,99), 1,123 (1,45), 1,139 (1,58), 1,157 (1,60), 1,176 (1,00), 1,371 (1,16), 1,384 (1,50), 1,403 (1,71), 1,418 (1,23), 1,435 (0,83), 1,604 (0,88), 1,619 (1,50), 1,636 (1,70), 1,651 (1,23), 2,408 (1,27), 2,425 (2,91), 2,441 (3,13), 2,458 (1,88), 2,524 (0,87), 2,749 (0,82), 3,143 (4,18), 3,158 (6,08), 3,174 (3,40), 4,176 (1,25), 4,194 (3,04), 4,211 (4,04), 4,241 (8,74), 4,255 (4,27), 4,263 (3,35), 7,303 (5,42), 7,322 (12,94), 7,340 (10,81), 7,353 (1,98), 7,394 (7,49), 7,413 (11,83), 7,431 (5,34), 7,673 (5,88), 7,683 (5,84), 7,691 (5,19), 7,701 (4,30), 7,876 (12,54), 7,895 (11,30), 12,176 (1,21).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 93A

Ácido

2- [(1*s*,2*s*)- 1- ({[(9*h*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}amino)- 2- metilbutil]- 1,3- oxazol- 4- carboxílico



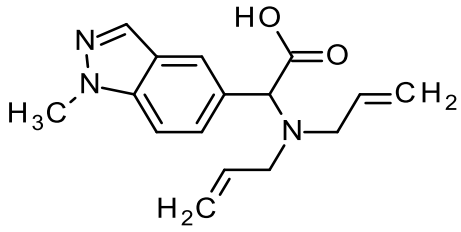
Se disolvió ácido 2-{(1*S*,2*S*)-1-[(*ter*-butoxicarbonil)amino]-2-metilbutil}-1,3-oxazol-4-carboxílico (Ejemplo, 87A, 1,85 g, 6,21 mmol) en ácido trifluoroacético (7,6 mL, 99 mmol) y la solución se agitó durante 15 minutos. Luego, la solución se diluyó con tolueno y se evaporó. Este paso se repitió una vez más. El producto crudo se disolvió en 1,4-dioxano (20 mL, 230 mmol) y agua (20 mL). Se agregó carbonato de potasio (1,60 g, 11,6 mmol) y 1-{[(9*h*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]oxi}pirrolidin-2,5-diona (2,35 g, 6,96 mmol) y la mezcla reactiva se agitó a temperatura ambiente toda una noche. La mezcla reactiva se diluyó con agua (65 mL) y se acidificó a pH 2-3 con una solución de ácido cítrico acuoso al 10%. La mezcla reactiva se extrajo con acetato de etilo (tres veces) y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó en sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (diclorometano-metanol [3-7% + 1% ácido acético]) y las fracciones que contenían el producto se combinaron, se diluyeron con tolueno y luego se concentraron. Luego se agregó tolueno nuevamente y la solución se concentró para obtener 2,09 g (100% pureza, 80% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (MCW_FT_MS_M1): R_t = 2,01 minutos; MS (ESI pos): m/z = 421 $[M+H]^+$

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 94A

Ácido di(prop-2-en-1-il)amino](1-metil-1*H*-indazol-5-il)acético (racemato)



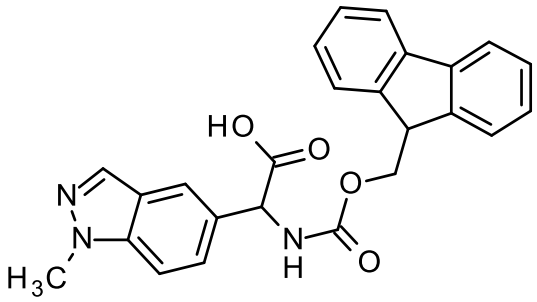
Se disolvió ácido (1-metil-1*H*-indazol-5-il)borónico (CAS-RN: 590418-08-9, 500 mg, 2,84 mmol), ácido oxoacético (CAS-RN: 298-12-4, 310 µL, 50% pureza, 2,8 mmol) y *N*-(prop-2-en-1-il)prop-2-en-1-amina (CAS-RN: 124-02-7, 350 µL, 2,8 mmol) en acetonitrilo (7,5 mL) y la mezcla reactiva se agitó durante 40 horas a 60 °C. Tras el enfriamiento, el sólido resultante se filtró, se lavó con acetato de etilo y se secó para obtener 740 mg (100% pureza, 91% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 0,44 minutos; MS (ESI neg): m/z = 284 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,008 (1,87), 2,073 (0,51), 3,110 (0,68), 3,125 (0,77), 3,147 (2,14), 3,161 (2,16), 3,176 (2,32), 3,193 (2,28), 3,213 (0,90), 3,230 (0,96), 4,030 (16,00), 4,531 (3,61), 5,110 (2,47), 5,134 (4,58), 5,174 (2,56), 5,752 (0,60), 5,768 (1,07), 5,778 (0,73), 5,783 (0,73), 5,794 (1,49), 5,810 (1,35), 5,820 (0,63), 5,826 (0,67), 5,837 (0,87), 5,852 (0,49), 6,514 (1,52), 7,432 (1,39), 7,435 (1,47), 7,454 (1,77), 7,457 (1,87), 7,602 (2,26), 7,624 (1,75), 7,699 (3,10), 8,041 (4,18).

Ejemplo, 95A

Ácido ({[(9*H*-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)(1-metil-1*H*-indazol-5-il)acético (racemato)



Se colocó 1,3-dimetil-1,3-diazinan-2,4,6-triona (CAS-RN: 769-42-6,1,97 g, 12,6 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (48,6 mg, 42,1 µmol) en un balón de destilación en atmósfera de argón. Luego se agregó

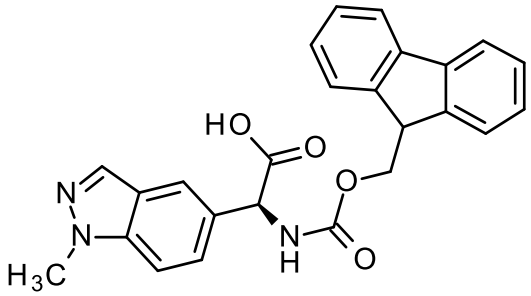
una solución de ácido [di(prop-2-en-1-il)amino](1-metil-1*H*-indazol-5-il)acético (Ejemplo, 94A, 600 mg, 2,10 mmol) en DCM seco y la mezcla reactiva se agitó 2 horas a 35 °C. La suspensión se diluyó con acetona y agua; luego, la mezcla reactiva se concentró para eliminar el DCM. Se agregó bicarbonato de sodio (2,65 g, 31,5 mmol) (ATENCIÓN: se formaron gases). Se agregó 1-({[(9h-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}oxi)pirrolidin-2,5-diona (780 mg, 2,31 mmol) a la suspensión y la mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. Se agregó agua y una solución acuosa de carbonato de sodio al 10% y la solución se extrajo dos veces con MTBE. La fase acuosa se acidificó con solución acuosa de ácido cítrico y luego se extrajo tres veces con DCM. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de magnesio, se filtraron y luego se concentraron. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 40 mm; solvente: AcCN/H_2O que contiene 0,1% HCOOH; caudal: 100 mL/min; gradiente: 0 - 5,50 minutos (10:90); inyección de muestra a los 3,00 minutos; 5,50 - 17,65 minutos gradiente a 95: 5; 17,65 - 19,48 minutos (95:5); 19,48 - 19,66 minutos gradiente a 10:90; 19,66 - 20,72 minutos (10:90) para obtener 422 mg (100% pureza, 47% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 0,94 minutos; MS (ESI pos): m/z = 428 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 2,073 (0,59), 4,041 (16,00), 4,198 (0,63), 4,215 (1,87), 4,231 (3,51), 4,253 (1,84), 4,269 (1,50), 4,280 (1,92), 4,298 (1,70), 4,319 (0,59), 5,256 (1,81), 5,276 (1,80), 7,275 (0,90), 7,293 (2,03), 7,320 (2,08), 7,339 (1,26), 7,388 (1,98), 7,406 (3,38), 7,424 (1,73), 7,445 (1,60), 7,467 (1,96), 7,621 (2,30), 7,643 (1,76), 7,744 (3,56), 7,763 (3,31), 7,792 (3,19), 7,875 (4,81), 7,893 (4,48), 8,063 (4,53), 8,213 (1,70), 8,232 (1,65), 12,835 (1,03).

Ejemplo, 96A

ácido ({[(9*H*-fluoren-9-il)metoxi]carbonil}amino)(1-metil-1H-indazol-5-il)acético (enantiómero 1)



La mezcla diastereomérica (Ejemplo, 95A, 600 mg) se disolvió en metanol/acetonitrilo (60 mL) y se separó mediante un equipo Prep 200 para cromatografía de fluidos supercríticos (THAR) con una columna Chiralpak AD-H (SFC) 5 µm, 250 x 30 mm; eluyente: CO2/isopropanol (80:20); presión: 135 bares; temperatura del eluyente: 38 °C; tasa de flujo: 100 g/min; detección: UV 210 nm; volumen de inyección: 0,4 mL/inyección; en condiciones operativas generales, 1 g/min de CO2 es aproximadamente equivalente a 1 mL/min.

Configuración de la secuencia: tiempo del ciclo = 11,2 minutos

La fracción 1 se recolectó a los 5,8 minutos (enantiómero 1); la fracción 2 se recolectó alrededor de los 7,7 minutos (enantiómero 2). Las fracciones se concentraron.

Las fracciones se analizaron mediante un cromatógrafo de fluidos supercríticos con un espectrógrafo de masa acoplado (SFC-MS) analítico (Agilent, columna: Daicel AD-3 3 µm 100 x 4,6 mm, eluyente: CO2/metanol (80:20); presión BPR: 130 bares; temperatura BPR: 60 °C; temperatura de la columna: 40 °C; tasa de flujo: 3 mL/min; UV 210 nm.

La estereoquímica de los dos enantiómeros no se asignó.

Se obtuvieron 185 mg del enantiómero 1 (100% pureza, 99,5% ee) (estereoquímica no determinada).

LC-MS (método 10): R_t = 1,80 minutos; MS (ESI pos): m/z = 428 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 4,040 (16,00), 4,197 (0,54), 4,214 (1,44), 4,230 (2,80), 4,251 (1,59), 4,268 (1,38), 4,278 (1,68), 4,295 (1,46), 4,316

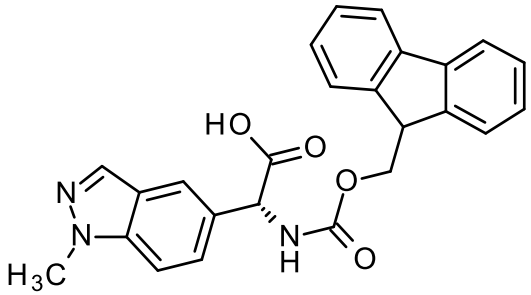
(0,48), 5,241 (1,20), 5,261 (1,19), 7,275 (0,78), 7,294 (1,73), 7,321 (1,78), 7,339 (1,11), 7,386 (1,77), 7,394 (1,54), 7,405 (2,97), 7,412 (2,26), 7,423 (1,63), 7,444 (1,36), 7,466 (1,53), 7,617 (1,85), 7,638 (1,42), 7,742 (3,01), 7,761 (2,84), 7,787 (2,53), 7,874 (4,50), 7,893 (4,19), 8,058 (4,56), 8,183 (0,93), 8,201 (0,92).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 97A

ácido

({[(9*H*- fluoren- 9- il)metoxi]carbonil}amino)(1- metil- 1H- indazol- 5- il)acético (enantiómero 2)



Aplicando el método de separación quiral descrito en el Ejemplo, 96A, se obtuvieron 145 mg (100% pureza, 94,3%) del enantiómero 2 (estereoquímica no determinada).

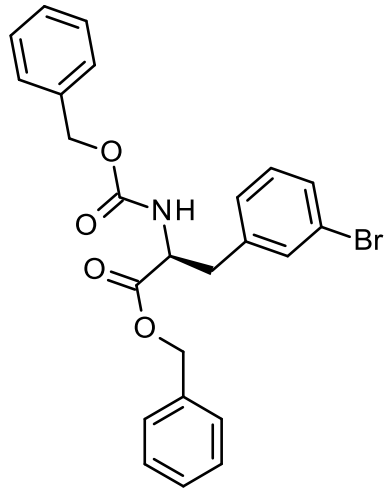
LC-MS (método 10): R_t = 1,80 minutos; MS (ESI pos): m/z = 428 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (0,78), 0,008 (0,70), 4,040 (16,00), 4,198 (0,41), 4,214 (1,16), 4,230 (2,33), 4,252 (1,27), 4,268 (1,03), 4,278 (1,36), 4,295 (1,14), 4,300 (0,99), 5,243 (0,98), 5,262 (0,98), 7,276 (0,59), 7,294 (1,34), 7,313 (1,11), 7,321 (1,38), 7,340 (0,86), 7,387 (1,36), 7,394 (1,12), 7,406 (2,32), 7,413 (1,70), 7,424 (1,22), 7,431 (0,89), 7,444 (1,06), 7,466 (1,21), 7,618 (1,52), 7,640 (1,16), 7,743 (2,38), 7,762 (2,23), 7,787 (2,02), 7,875 (3,68), 7,894 (3,45), 8,059 (3,94), 8,188 (0,73), 8,207 (0,72).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 98A

Bencil *N*- [(benciloxi)carbonil]- 3- bromo- L- fenilalaninato



Se disolvió *N*- [(benciloxi)carbonil]- 3- bromo- *L*- fenilalanina (15,3 g, 40,5 mmol) en metanol (113 mL). Se agregó carbonato de cesio (6,59 g, 20,2 mmol) y la mezcla se agitó hasta que dejó de formarse gas. La solución se evaporó a sequedad. El residuo se disolvió en DMF (140 mL, 1,8 mol) y se agregó (bromometil)benceno (5,3 mL, 44 mmol) gota a gota. Luego de un lapso breve, un sólido precipitó. La suspensión se diluyó con éter y agua. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo dos veces con dietiléter. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera y luego se secaron sobre sulfato de magnesio. El residuo cristalino se disolvió en éter y, tras el agregado de pentano, se formó un precipitado. El sólido se filtró y se secó. La solución de éter/pentano se evaporó y se disolvió en éter; tras el agregado de pentano, se formó un precipitado. El sólido se filtró y se secó para obtener 16,0 g (100% pureza, 84% rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 10): Rt = 2,42 minutos; MS (ESI pos): m/z = 468 [M+H]+

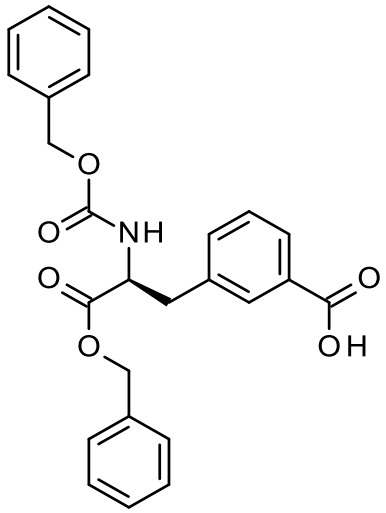
^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 2,874 (2,41), 2,895 (2,86), 2,902 (3,10), 2,923 (2,76), 3,071 (2,84), 3,082 (2,96), 3,099 (2,26), 3,109 (2,09), 3,636 (0,82),

4,336 (1,73), 4,347 (2,20), 4,353 (2,43), 4,357 (2,48), 4,363 (2,48), 4,373 (1,83), 4,383 (1,37), 4,921 (0,55), 4,963 (1,81), 4,989 (12,84), 4,994 (11,01), 5,020 (1,18), 5,043 (0,96), 5,093 (1,11), 5,119 (12,74), 5,139 (0,55), 5,147 (0,97), 7,174 (0,85), 7,211 (3,13), 7,226 (9,23), 7,241 (11,35), 7,248 (16,00), 7,263 (11,82), 7,298 (10,22), 7,313 (14,37), 7,316 (14,35), 7,321 (12,62), 7,332 (10,08), 7,336 (11,10), 7,344 (8,08), 7,351 (11,64), 7,366 (7,19), 7,379 (2,35), 7,414 (5,80), 7,429 (4,73), 7,499 (7,87), 7,880 (4,47), 7,896 (4,30).

Ejemplo, 99A

Ácido

3- [(2*S*)- 3- (benciloxi)- 2- {[(benciloxi)carbonil]amino}- 3- oxopropil]benzoico

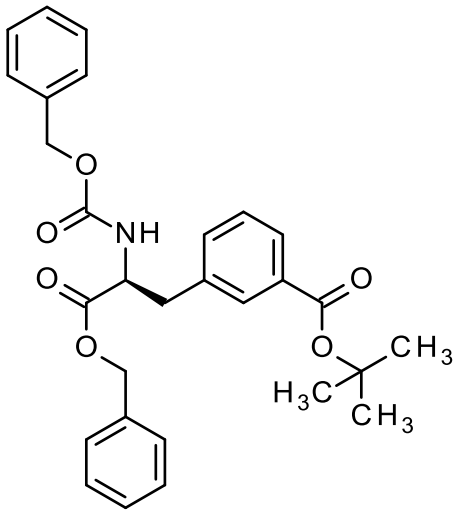


La reacción se llevó a cabo en atmósfera de argón. En un autoclave de 2 L (velocidad de agitación: 750 rpm) se agregó acetato de paladio (II) (2,16 g, 9,61 mmol), 1,1'- Bis(difenilfosfino)ferroceno (10,63 g, 19,22 mmol) y acetato de potasio (47,1 g, 480 mmol). El autoclave se irriga con argón y los reactivos se disuelven con DMF (450 mL). Una solución de bencil *N*- [(benciloxi)carbonil]- 3- bromo- *L*- fenilalaninato (Ejemplo, 98A, 45,0 g, 96,1 mmol) en DMF seco (930 mL) se agregó al autoclave, seguido del agregado de agua (18 mL). El autoclave se selló, se purgó repetidas veces con ni-

trógeno y se dejó reposar brevemente. Se presurizó el autoclave con monóxido de carbono (3 bar) y luego se calentó a 80 °C y 3 bares durante 960 minutos. Una vez completada la reacción, el autoclave se purgó, se abrió y luego el contenido se disolvió en agua (13 L). La mezcla reactiva se extrajo tres veces con acetato de etilo (7 L) y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y luego se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía preparativa de fase normal (10 kg de gel de sílice) con DCM/MeOH (95/5) y se purificó adicionalmente mediante cromatografía preparativa (gradiente DCM/MeOH, Biotage Isolera) para obtener 10,7 g (92% pureza) del compuesto del título.
LC-MS (método 10): R_t = 1,92 minutos; MS (ESI neg): m/z = 432,14 $[M+H]^+$

Ejemplo, 100A

Bencilo *N*-[(benciloxi)carbonilo]-3-(*tert*-butoxicarbonil)-*L*-fenilalaninato



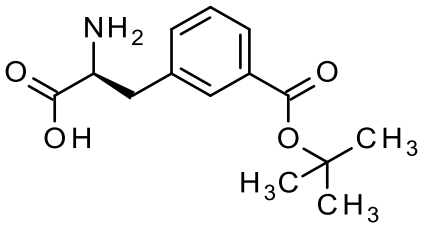
Al ácido 3-[(2*S*)-3-(Benciloxi)-2-{[(benciloxi)carbonilo]amino}-3-oxopropil]benzoico (Ejemplo, 99A,18,0 g, 41,5 mmol) se le añadió diclorometano (280 mL, 4,4 mol). Se añadió ciclohexano (140 mL, 1,3 mol), *tert*-butil 2,2,2-tricloroetanimidato (36,3 g, 166 mmol) y (éter dietílico)(trifluoro)boro (1,6 mL, 12 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 h, se añadió más éter dietílico (trifluoro) boro (1,6 mL, 12 mmol)

y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió (éter dietílico)(trifluoro)boro (1 mL, 7,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a temperatura ambiente. Se añadió *tert*-Butil 2,2,2-tricloroetanimidato (9,0 g, 40,5 mmol) y (éter dietílico)(trifluoro)boro adicional (1 mL, 7,5 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. La suspensión se filtró y el precipitado se lavó con DCM: ciclohexano (2:1). La solución se diluyó con una solución acuosa concentrada de carbonato de hidrógeno sódico. Las capas de agua combinadas se extrajeron dos veces con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y luego se evaporaron. El aceite negro resultante se agitó con ciclohexano y acetato de etilo (2%), el precipitado se filtró y el filtrado se evaporó. El aceite negro resultante se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (ciclohexano - acetato de etilo (9:1)) para obtener 12,1 g (pureza del 100%, rendimiento del 60%) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 1,34 min; MS (ESI pos): m/z = $[M+H]^+$490

Ejemplo, 101A

3-(*tert*-Butoxicarbonil)-*L*-fenilalanina



El bencilo *N*-[(benciloxi)carbonilo]-3-(*tert*-butocarbonil)-*L*-fenilalaninato (Ejemplo, 100A, 13,0 g, 26,6 mmol) se disolvió en metanol (250 mL). Se añadió paladio al 10% sobre carbón vegetal (1,54 g) y la mezcla se hidrogenó a presión ambiente durante 4 horas a temperatura ambiente. Se formó un precipitado. La suspensión se disolvió en metanol y se agitó en el momento del reflujo. La solución caliente se filtró sobre una capa de tierra de diatomeas y la pasta de filtro se lavó con metanol (apróx. 1 L). El filtrado combinado se concentró y secó,

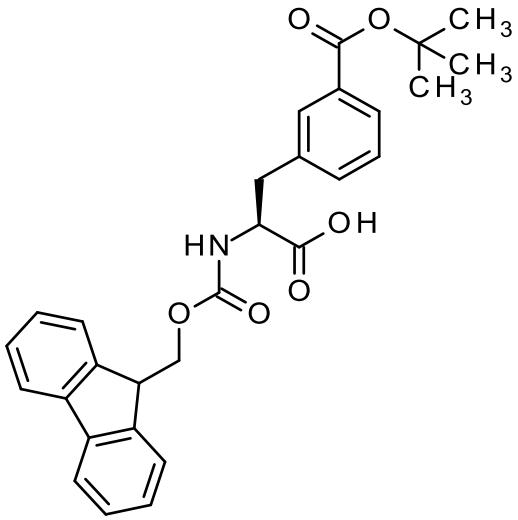
proporcionando 6,10 g (94% de pureza, 81% de rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 0,59 minutos; MS (ESI neg): m/z = 264 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,525 (5,74), 1,546 (16,00), 2,326 (0,50), 2,366 (0,48), 2,670 (0,50), 2,709 (0,48), 3,169 (0,57), 7,400 (0,89), 7,419 (0,66), 7,501 (0,76), 7,739 (0,84), 7,759 (0,85), 7,796 (1,02).

Ejemplo, 102A

3-(*tert*-Butoxicarbonil)-*N*-{[(9*H*-fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}-*L*-fenilalanina



La 3-(*tert*-Butoxicarbonil)-*L*-fenilalanina (Ejemplo, 101A, 6,10 g, 23,0 mmol) se disolvió en agua (100 mL) y acetona (100 mL). Se añadió carbonato de hidrógeno sódico (19,3 g, 230 mmol). Se añadió una solución de 1-({[(9*H*-fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}oxi)pirrolidina-2,5-diona (8,14 g, 24,1 mmol) disuelta en acetona (100 mL) y se agitó la mezcla de reacción durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con una porción de MTBE. La capa acuosa se acidificó con 1M de clorhídrico y se extrajo con DCM. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró para obtener 8,90 g (100% de pureza, 79% de rendimiento) del compuesto del título. El producto también estaba

presente en la capa orgánica. Se concentró la capa orgánica. Se añadió DCM y 1M de clorhídrico al residuo y la mezcla se agitó durante 5 min. El residuo se filtró y se lavó con agua y DCM. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con DCM. La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró. Se purificó el producto crudo mediante la cromatografía flash en columna de gel de sílice (gradiente DCM: metanol (0-10%). El residuo se recogió en acetonitrilo y se purificó por HPLC preparativa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 40 mm; solvente: AcCN/H_2O que contiene 0,1% de HCOOH; tasa de flujo: 100 mL/min; gradiente: 0 - 5,50 min (10: 90); inyección de muestra a 3,00 min; gradiente de 5,50 - 17,65 min a 95: 5; 17,65 - 19,48 min (95: 5); gradiente de 19,48 - 19,66 min a 10: 90; 19,66 - 20,72 min (10:90). En total, se obtuvieron 1,58 g (100% de pureza, 14% de rendimiento) del compuesto del título.

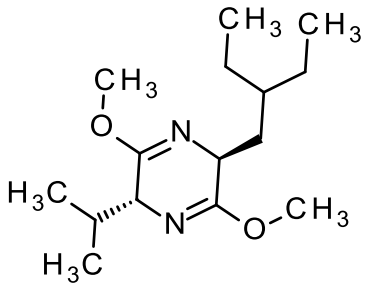
LC-MS (método 10): R_t = 2,27 minutos; MS (ESI neg): m/z = 486 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,106 (1,34), 1,144 (4,63), 1,519 (16,00), 1,544 (0,64), 2,086 (1,34), 2,119 (1,97), 2,483 (1,16), 2,595 (0,68), 3,077 (0,43), 3,319 (1,89), 4,158 (0,42), 4,169 (0,81), 4,181 (2,03), 4,195 (0,76), 4,203 (0,48), 4,541 (0,43), 7,259 (0,80), 7,277 (0,76), 7,293 (0,68), 7,312 (0,44), 7,378 (0,62), 7,384 (0,86), 7,397 (1,11), 7,403 (1,62), 7,415 (0,62), 7,422 (0,90), 7,521 (0,63), 7,540 (0,45), 7,583 (0,68), 7,605 (0,86), 7,626 (0,62), 7,747 (0,59), 7,766 (0,57), 7,784 (0,68), 7,806 (0,63), 7,847 (1,02), 7,864 (1,58), 7,883 (1,42).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 103A

(*2S,5R*)-2-(2-Etilbutil)-3,6-dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina



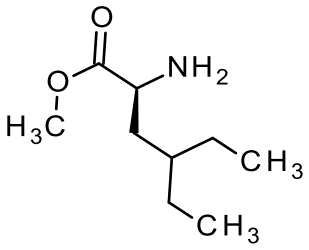
El (*2R*)-3,6-Dimetoxi-2-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina (CAS-RN: 109838-859, 2,9 mL, 16 mmol) se disolvió en THF anhidro (60 mL, 740 mmol) y la solución se enfrió a -78 °C. El n-butilitio (10 mL, 1,6 M, 16 mmol) se añadió gota a gota lentamente durante un período de 15 minutos mientras se agitaba a -78 °C. Se añadió 3-(Bromometil)pentano (5,91 g, 35,8 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h a -78 °C, dejándola después a temperatura ambiente durante la noche. La solución se enfrió a 0 °C y se apagó lentamente con agua. Se añadió éter dietílico y después de agitar durante varios minutos, se separó la capa orgánica. La fase acuosa se extrajo dos veces con éter dietílico. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 2%) para obtener 2,60 g (pureza del 95%, rendimiento del 57%) del compuesto del título.

LC-MS (método 10): R_t = 2,90 minutos; MS (ESI pos): m/z = 269 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (0,51), 0,008 (0,45), 0,608 (6,77), 0,624 (6,91), 0,771 (3,04), 0,790 (7,57), 0,796 (3,51), 0,808 (4,20), 0,815 (7,45), 0,833 (3,54), 0,999 (6,56), 1,016 (6,71), 1,179 (0,65), 1,197 (0,97), 1,215 (0,95), 1,223 (0,51), 1,232 (0,73), 1,240 (0,81), 1,257 (1,26), 1,275 (1,64), 1,294 (1,28), 1,310 (0,57), 1,343 (0,55), 1,356 (1,67), 1,364 (0,66), 1,369 (0,83), 1,376 (1,52), 1,388 (1,40), 1,398 (0,66), 1,403 (0,63), 1,409 (1,04), 1,422 (0,43), 1,459 (0,56), 1,474 (0,63), 1,489 (0,45), 1,637 (0,66), 1,647 (0,68), 1,656 (0,56), 1,667 (0,69), 1,670 (0,69), 1,681 (0,54), 1,690 (0,48), 1,700 (0,44), 2,191 (0,54), 2,199 (0,55), 2,208 (0,71), 2,216 (0,71), 2,225 (0,52), 2,233 (0,51), 3,597 (16,00), 3,616 (15,85), 3,916 (1,08), 3,925 (2,24), 3,933 (1,46), 3,959 (0,67), 3,969 (1,06), 3,980 (0,99), 3,990 (1,00), 4,000 (0,49).

Ejemplo, 104A

4-etil-*L*-norleucinato de metilo

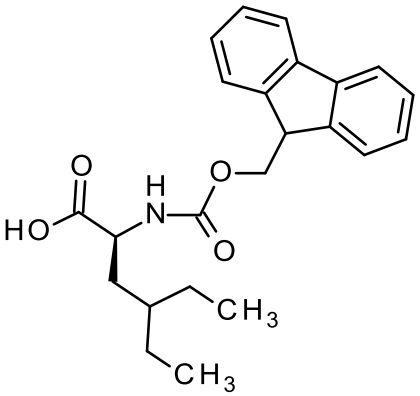


Una solución (2*S,5R*)-2-(2-Etilbutil)-3,6-dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina (Ejemplo, 103A, 2,60 g, 9,69 mmol) en metanol (30 mL) se enfrió a 0 °C y se añadió una solución acuosa al 10% de ácido clorhídrico (10 mL) y luego se agitó la mezcla de reacción durante 2 h. La solución se evaporó y el residuo se diluyó con DCM y solución de carbonato de sodio (100 mL, 2,0 M). La capa acuosa separada se extrajo dos veces con DCM. La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró para obtener 3,49 g (48% de pureza, 100% de rendimiento) del compuesto del título.

GC-MS (GC-MS Método 1): R_t = 3,18 min, m/z = 173 [M+]

Ejemplo, 105A

4-Etil-*N*-{[(9*H*-fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}-*L*-norleucina



Al metilo 4-etil-*L*-norleucinato (Ejemplo, 104A, 3,97 g, 48% de pureza, 11,0 mmol) se le añadió metanol (100 mL) y la solución resultante se enfrió a

0 °C. Se añadió una solución de hidróxido de sodio (24 mL, 1,0 M) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h a 0 °C, luego se calentó a temperatura ambiente y se agitó más durante 4 h. Se añadieron secuencialmente a la solución agua (80 mL), carbonato de hidrógeno sódico (2,03 g, 24,2 mmol) y carbonato de sodio (4,00 g, 37,7 mmol). El metanol se eliminó de la mezcla de reacción por evaporación rotativa y la solución acuosa se diluyó con 1,4-dioxano (60 mL). La suspensión se enfrió a 0 °C y se añadió (9H-fluoren-9-il)carbonocloruro de metilo (CAS-RN: 28920-43-6, 8,54 g, 33,0 mmol). La mezcla reactiva se agitó toda una noche a temperatura ambiente. Se añadió agua y MTBE, se agitó brevemente y luego se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con MTBE y luego la capa orgánica combinada se lavó con una solución de carbonato de sodio al 5%. La capa acuosa combinada se acidificó hasta el pH 1 con sulfato de hidrógeno de potasio y la suspensión acuosa se extrajo tres veces con DCM. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó por HPLC preparativa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 40 mm; solvente: AcCN/H_2O que contiene 0,1% HCOOH; caudal: 100 mL/min; gradiente: 0 - 5,50 min (10: 90); inyección de muestra a 3,00 min; gradiente de 5,50 - 17,65 min a 95: 5; 17,65 - 19,48 min (95: 5); gradiente de 19,48 - 19,66 min a 10: 90; 19,66 - 20,72 min (10:90), proporcionando 1,57 g (100% de pureza, 37% de rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 11): R_t = 1,49 minutos; MS (ESI pos): m/z = 404 $[M+Na]^+$

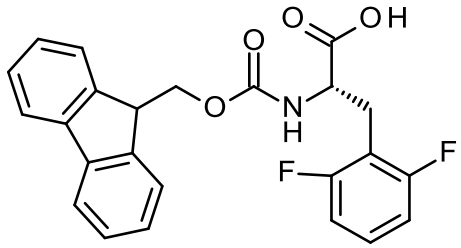
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (3,19), 0,008 (3,01), 0,774 (6,73), 0,792 (16,00), 0,809 (13,36), 0,826 (14,04), 0,844 (7,32), 1,181 (0,92), 1,197 (1,90), 1,216 (3,12), 1,234 (3,84), 1,253 (2,82), 1,273 (1,79), 1,293 (2,23), 1,308 (3,41), 1,331 (4,60), 1,339 (4,12), 1,505 (0,45), 1,557 (3,55), 1,575 (5,01), 1,590 (3,09), 3,950 (1,22), 3,970 (2,67), 3,989 (2,69), 4,009 (1,11), 4,204 (1,35), 4,220 (3,90), 4,238 (7,46), 4,263 (5,22), 4,279 (3,57), 4,286 (5,10), 4,304 (3,43), 4,310 (2,32), 4,328 (1,06), 7,299 (2,60), 7,306 (2,93), 7,317 (5,73), 7,322 (5,59), 7,336 (3,69), 7,341 (3,48), 7,400 (6,17), 7,419 (10,33), 7,437 (4,62), 7,626

(4,21), 7,647 (3,80), 7,711 (8,98), 7,729 (8,16), 7,884 (9,94), 7,903 (9,15), 12,540 (0,98).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 106A

N-{[(9*H*-Fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}-2,6-difluoro-*L*-fenilalanina



Al metilo 2,6-difluoro-L-fenilalaninato (CAS-RN: 1192057-28-5, 1,03 g, 4,79 mmol) se añadió metanol (18,5 mL) y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió solución de hidróxido de sodio (4,8 mL, 1,0 M) y se agitó la mezcla de reacción durante 1 h a temperatura ambiente. A la solución se añadió agua (17 mL), carbonato de hidrógeno sódico (402 mg, 4,79 mmol) y carbonato de sodio (667 mg, 6,29 mmol). El metanol se eliminó por evaporación rotativa y la capa acuosa se diluyó con 1,4-dioxano (14 mL). La suspensión se enfrió a 0 °C y se añadió (9H-fluoren-9-il)carbonocloruro de metilo (CAS-RN: 28920-43-6, 1,86 g, 7,18 mmol). La mezcla se revolvió durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se lavó con MTBE. La capa acuosa se acidificó hasta un pH 1 con ácido clorhídrico 1 M y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron, para obtener 1,74 g (100% de pureza, 86% de rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 10): R_t = 2,00 minutos; MS (ESI pos): m/z = 424 $[M+H]^+$

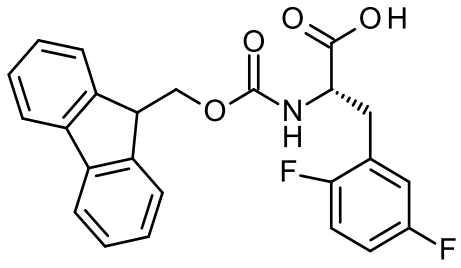
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,157 (0,74), 1,175 (1,50), 1,193 (0,76), 1,988 (2,79), 2,992 (0,74), 3,014 (0,87), 3,025 (1,22), 3,048 (1,17), 3,118 (1,24), 3,134 (1,32), 3,153 (0,81), 3,169 (0,76), 3,316 (16,00), 4,021 (0,71), 4,039

(0,70), 4,131 (0,95), 4,149 (1,39), 4,166 (2,72), 4,194 (4,15), 4,213 (2,65), 4,235 (0,72), 7,013 (1,71), 7,033 (3,28), 7,053 (2,07), 7,290 (1,33), 7,307 (3,44), 7,323 (4,18), 7,341 (2,36), 7,357 (0,48), 7,397 (2,41), 7,415 (4,00), 7,434 (1,83), 7,639 (2,22), 7,659 (3,87), 7,679 (1,99), 7,818 (1,97), 7,839 (1,95), 7,876 (4,80), 7,894 (4,40), 12,793 (0,81).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 107A

N-{[(9*H*-Fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}-2,5-difluoro-L-fenilalanina



Al metil 2,5-difluoro-L-fenilalaninato (CAS-RN: 1213491-95-2, 2,27 g, 10,5 mmol) se añadió metanol (40 mL) y la solución resultante se enfrió a 0 °C. Se añadió solución de hidróxido de sodio (11 mL, 1,0 M) y se agitó la mezcla de reacción durante 1,5 h a temperatura ambiente. A la solución se añadió agua (35 mL), carbonato de hidrógeno sódico (886 mg, 10,5 mmol) y carbonato de sodio (1,47 g, 13,9 mmol). El metanol se eliminó por evaporación rotativa y la capa acuosa se diluyó con 1,4-dioxano (30 mL). La suspensión se enfrió a 0 °C y se añadió (9H-fluoren-9-il)carbonocloruro de metilo (CAS-RN: 28920-43-6, 4,09 g, 15,8 mmol) se agregó y la mezcla de reacción se revolvió durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con agua y se lavó con MTBE. La capa acuosa se acidificó hasta un pH 1 con una solución de ácido clorhídrico 1 M y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y luego se concentraron. El producto crudo se purificó mediante la cromatografía flash en columna de gel de sílice (gradiente DCM:

metanol 0-5%), luego el residuo se recogió en acetonitrilo y se purificó nuevamente con una HPLC preparativa (columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 40 mm; solvente: AcCN/H_2O que contiene 0,1% HCOOH; caudal: 100 mL/min; gradiente: 0 - 5,50 min (10: 90); inyección de muestra a 3,00 min; gradiente de 5,50 - 17,65 min a 95: 5; 17,65 - 19,48 min (95: 5); 19,48 - 19,66 min bis 10: 90; 19,66 - 20,72 min (10:90) para obtener 1,82 g (100% de pureza, 41% de rendimiento) del compuesto del título.

LC-MS (método 9): R_t = 1,04 minutos; MS (ESI pos): m/z = 424 $[M+H]^+$

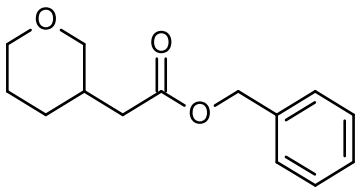
^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (2,88), 0,008 (2,75), 1,234 (0,68), 2,329 (0,47), 2,671 (0,46), 2,843 (2,48), 2,870 (3,13), 2,877 (3,47), 2,904 (3,10), 3,166 (3,44), 3,177 (3,74), 3,200 (2,97), 3,212 (2,73), 4,141 (1,90), 4,158 (5,16), 4,173 (9,08), 4,196 (12,08), 4,201 (12,22), 4,211 (8,55), 4,221 (7,38), 4,233 (3,76), 4,246 (2,97), 4,259 (2,15), 7,084 (0,87), 7,093 (1,61), 7,106 (2,33), 7,114 (3,81), 7,124 (3,21), 7,135 (2,97), 7,144 (2,17), 7,175 (3,13), 7,187 (4,77), 7,197 (6,58), 7,210 (7,69), 7,220 (4,45), 7,232 (3,61), 7,263 (4,47), 7,282 (9,79), 7,301 (7,22), 7,305 (7,95), 7,325 (4,82), 7,349 (0,45), 7,389 (6,78), 7,408 (11,73), 7,426 (5,46), 7,489 (0,48), 7,509 (0,67), 7,532 (0,46), 7,610 (7,40), 7,628 (12,92), 7,646 (6,48), 7,791 (6,23), 7,812 (6,10), 7,871 (16,00), 7,890 (14,50), 12,862 (3,43).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Este aminoácido también se preparó a partir del metilo 2,5-difluoro-*L*-fenilalaninato preparado en el Ejemplo, 126A. El aminoácido también puede prepararse a partir del 2,5-difluoro-*L*-fenilalaninato de metilo (CAS RN: 31105-92-7) utilizando el procedimiento que se describe en el Ejemplo, 106A.

Ejemplo, 108A

Tetrahidro-*2H*-pirano-3-ilacetato de bencilo (racemato)



El ácido tetrahidro-*2H*-pirano-3-ilacético (1,00 g, 6,94 mmol) se disolvió en metanol (10 mL, 250 mmol). Se añadió carbonato de cesio (1,13 g, 3,47 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente hasta que cesó la evolución del gas. La solución luego se evaporó. El residuo se disolvió en DMF (10 mL), se añadió (bromometil)benceno (1,3 mL, 11 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió (bromometil)benceno (325 µL, 2,75 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 3 h a temperatura ambiente. A continuación, se diluyó la suspensión con agua y éter. Después de agitar durante unos minutos, se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo tres veces con éter dietílico. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo (85/15)) para obtener 1,50 g (pureza del 100%, rendimiento del 92%) del compuesto del título.

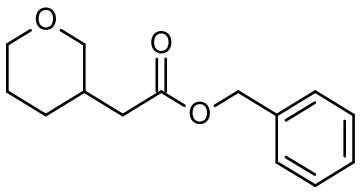
LC-MS (método 10): R_t = 1,84 minutos; MS (ESI pos): m/z = 235 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,161 (0,45), 1,170 (0,51), 1,183 (0,89), 1,187 (0,68), 1,191 (0,98), 1,196 (0,60), 1,204 (0,68), 1,208 (1,03), 1,212 (0,77), 1,217 (1,00), 1,229 (0,62), 1,238 (0,63), 1,428 (0,47), 1,447 (0,62), 1,449 (0,74), 1,455 (0,95), 1,463 (0,63), 1,468 (0,83), 1,476 (1,42), 1,484 (0,80), 1,489 (0,56), 1,498 (0,98), 1,501 (0,53), 1,506 (1,11), 1,509 (1,00), 1,516 (1,65), 1,523 (1,08), 1,532 (0,56), 1,543 (0,70), 1,550 (0,40), 1,747 (0,90), 1,751 (0,77), 1,755 (0,89), 1,764 (0,62), 1,773 (0,82), 1,777 (0,69), 1,781 (0,77), 1,887 (0,41), 1,894 (0,68), 1,901 (0,68), 1,908 (0,76), 1,914 (0,90), 1,921 (0,74), 1,927 (0,68), 1,934 (0,63), 2,194 (1,30), 2,208 (1,18), 2,225 (3,67), 2,239 (3,41), 2,255 (3,55), 2,270 (3,23),

2,286 (1,23), 2,301 (1,12), 3,018 (2,02), 3,038 (2,30), 3,041 (2,34), 3,059 (2,06), 3,246 (1,05), 3,252 (1,07), 3,267 (1,61), 3,273 (1,61), 3,289 (1,21), 3,295 (1,19), 3,685 (0,75), 3,692 (1,34), 3,705 (1,77), 3,708 (1,89), 3,713 (2,24), 3,716 (2,16), 3,726 (1,17), 3,730 (1,14), 3,734 (1,08), 3,738 (0,97), 5,089 (16,00), 7,310 (0,41), 7,315 (0,73), 7,320 (0,71), 7,327 (2,21), 7,334 (1,16), 7,339 (1,36), 7,342 (1,95), 7,345 (2,49), 7,348 (2,36), 7,351 (1,63), 7,360 (9,48), 7,364 (11,33), 7,371 (1,08), 7,376 (3,55), 7,378 (3,74), 7,382 (1,62), 7,390 (0,55), 7,393 (1,20), 7,395 (0,74).

Ejemplo, 109A

Acetato de bencilo tetrahidro-*2H*-pirano-3-il



La mezcla diastereomérica (Ejemplo, 108A, 1,5 g) se disolvió en metanol/acetonitrilo (30 mL) y se separó utilizando un instrumento THAR de cromatografía de fluidos supercríticos Prep 200 con una columna Chiralpak AZ-H (SFC) de 5 µm, 250 x 30 mm; eluyente: CO2/etanol (90:10); presión: 135 bar; eluyente de temperatura: 35 °C; tasa de flujo: 100 g/min; detección: UV 210 nm; volumen de inyección: 0,4 mL/inyección; en condiciones operativas generales, 1 g/min de CO2 es aproximadamente equivalente a 1 mL/min.

Configuración de la secuencia: tiempo del ciclo = 11,2 minutos

La fracción 1 se recogió a 1,48 min (enantiómero 1)

La fracción 2 se recogió entre 1,89 min (enantiómero 2)

Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se concentraron.

Las fracciones se analizaron mediante un cromatógrafo de fluidos supercríticos con un espectrógrafo de masa acoplado (SFC-MS) analítico (Agilent, columna: Daicel AZ-3 3 µm 100 x 4,6 mm, eluyente: CO2/etanol (90:10); presión BPR:

130 bares; temperatura BPR: 60 °C; temperatura de la columna: 40 °C; tasa de flujo: 3 mL/min; UV 210 nm.

La estereoquímica de los dos enantiómeros no se asignó.

El tetrahidro-*2H*-pirano-3-ilacetato de bencilo (enantiómero 1) se obtuvo con un 99,5% de ee (641 mg (pureza del 100%).

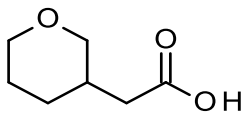
LC-MS (método 9): R_t = 0,98 minutos; MS (ESI pos): m/z = 235 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,161 (0,45), 1,170 (0,51), 1,183 (0,89), 1,187 (0,67), 1,191 (0,98), 1,196 (0,61), 1,204 (0,67), 1,209 (1,03), 1,213 (0,77), 1,217 (1,00), 1,230 (0,61), 1,238 (0,62), 1,428 (0,48), 1,447 (0,61), 1,449 (0,75), 1,455 (0,95), 1,463 (0,64), 1,468 (0,82), 1,476 (1,41), 1,484 (0,79), 1,489 (0,56), 1,498 (0,98), 1,501 (0,52), 1,507 (1,05), 1,510 (1,00), 1,516 (1,65), 1,523 (1,07), 1,532 (0,55), 1,543 (0,70), 1,747 (0,90), 1,751 (0,78), 1,755 (0,89), 1,764 (0,63), 1,773 (0,81), 1,777 (0,69), 1,781 (0,78), 1,887 (0,40), 1,894 (0,69), 1,901 (0,68), 1,908 (0,76), 1,914 (0,91), 1,921 (0,74), 1,927 (0,67), 1,934 (0,64), 2,194 (1,30), 2,208 (1,18), 2,225 (3,69), 2,239 (3,42), 2,255 (3,56), 2,270 (3,24), 2,286 (1,23), 2,301 (1,12), 3,019 (2,02), 3,038 (2,29), 3,041 (2,36), 3,060 (2,07), 3,246 (1,05), 3,252 (1,08), 3,268 (1,63), 3,273 (1,63), 3,289 (1,24), 3,295 (1,23), 3,686 (0,75), 3,692 (1,34), 3,705 (1,73), 3,708 (1,90), 3,713 (2,19), 3,715 (2,20), 3,726 (1,19), 3,730 (1,13), 3,734 (1,08), 3,738 (0,97), 5,089 (16,00), 7,310 (0,40), 7,315 (0,74), 7,321 (0,69), 7,328 (2,23), 7,334 (1,13), 7,339 (1,36), 7,342 (1,99), 7,345 (2,52), 7,347 (2,34), 7,350 (1,66), 7,360 (9,33), 7,364 (11,16), 7,371 (1,09), 7,376 (3,58), 7,378 (3,72), 7,382 (1,63), 7,390 (0,54), 7,393 (1,20), 7,396 (0,75).

También se obtuvo tetrahidro-2*H*-pirano-3-ilacetato de bencilo (enantiómero 2) con un 99,5% de ee (611 mg (pureza del 100%).

Ejemplo, 110A

Ácido tetrahidro-*2H*-pirano-3-ilacético (enantiómero 1)



El 10% de paladio en el carbón (84,0 mg) se humedeció con metanol en argón. Se añadió una solución de tetrahidro-*2H*-pirano-3-ilacetato de bencilo (Ejemplo, 109A, 641 mg, 2,74 mmol). Luego la mezcla de reacción se hidrogenó durante 2 h a presión ambiente a temperatura ambiente. El catalizador se eliminó por filtración sobre una capa de tierra de diatomeas, la pasta de filtro se lavó con metanol y el disolvente se eliminó por destilación rotativa, para obtener 364 mg (pureza del 100%, rendimiento del 92%) del compuesto del título.

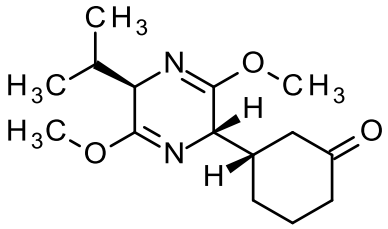
GC-MS (GC-MS Método 1): R_t = 3,57 min, m/z = 144 [M+]

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,145 (1,98), 1,154 (2,21), 1,166 (4,03), 1,171 (3,11), 1,175 (4,45), 1,180 (2,85), 1,188 (3,11), 1,192 (4,69), 1,196 (3,55), 1,201 (4,57), 1,213 (2,68), 1,222 (2,75), 1,428 (1,03), 1,436 (1,93), 1,445 (1,35), 1,449 (1,65), 1,455 (2,72), 1,458 (3,25), 1,463 (4,18), 1,471 (2,92), 1,476 (3,82), 1,484 (6,50), 1,493 (3,67), 1,498 (2,58), 1,506 (5,73), 1,514 (6,62), 1,521 (7,99), 1,528 (5,13), 1,537 (2,67), 1,548 (3,18), 1,554 (1,80), 1,563 (0,64), 1,759 (1,78), 1,767 (4,22), 1,771 (3,85), 1,775 (4,26), 1,784 (2,89), 1,793 (3,85), 1,797 (3,49), 1,801 (3,85), 1,809 (1,56), 1,824 (0,81), 1,832 (1,31), 1,839 (1,87), 1,846 (3,17), 1,853 (3,16), 1,859 (3,72), 1,866 (4,34), 1,873 (3,58), 1,879 (3,34), 1,886 (3,00), 1,893 (1,65), 1,900 (1,44), 1,908 (0,69), 2,023 (6,18), 2,036 (5,11), 2,054 (16,00), 2,068 (14,33), 2,087 (15,54), 2,101 (13,64), 2,118 (5,69), 2,133 (5,09), 2,999 (9,23), 3,018 (10,90), 3,021 (11,02), 3,040 (9,47), 3,134 (0,64), 3,247 (6,14), 3,253 (6,29), 3,269 (9,57), 3,275 (9,49), 3,291 (7,06), 3,297 (6,90), 3,586 (0,59), 3,696 (3,77), 3,703 (6,42), 3,709 (4,14), 3,717 (8,63), 3,725 (11,12), 3,739 (5,37), 3,743 (5,40), 3,747 (5,21), 3,750 (4,68).

Esta sustancia se usó en el SPPS.

Ejemplo, 111A

(3*S*)-3-[(*2S,5R*)-3,6-Dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina-2-il]ciclohexano-1-ona



(2*R*)-3,6-Dimetoxi-2-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina (4,61 g, 25,0 mmol) se disolvió en THF (20 mL) y se refrigeró a -78 °C. El butilitio (16 mL, 1,6 M, 25 mmol) se añadió gota a gota con agitación. La agitación continuó durante 15 minutos a -78 °C. Se añadió litio (azanidilidenometilideno)(tiofen-2-il)cobre (100 mL, 0,25 M, 25 mmol) y se agitó la mezcla durante 15 min a -78 °C. Se añadió una solución de ciclohex-2-en-1-ona (2,4 mL, 25 mmol) en THF (10 mL) y se agitó la mezcla de reacción durante 10 min a -78 °C, y luego se volvió a agitar a temperatura ambiente durante 2 h. La reacción se apagó con agua y se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una solución de carbonato de hidrógeno sódico y salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego el residuo se concentró a presión reducida para obtener 6,8 g de un aceite incoloro. El producto crudo se purificó mediante la cromatografía flash en columna de gel de sílice (gradiente ciclohexano/acetato de etilo 85-15) para obtener 5,7 g (pureza del 90%, rendimiento del 64%) del compuesto del título.

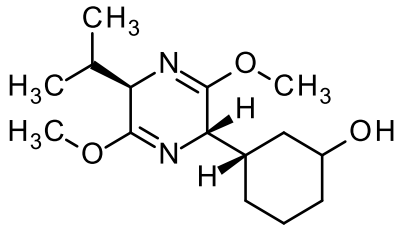
LC-MS (método 12): R_t = 3,14 minutos; MS (ESI pos): m/z = 281,2 $[M+H]^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,587 (0,94), 0,604 (1,17), 0,617 (6,04), 0,634 (6,04), 0,971 (0,51), 0,988 (5,87), 0,995 (1,32), 1,005 (5,67), 1,012 (0,98), 1,032 (0,88), 1,049 (0,91), 1,575 (0,55), 1,596 (0,42), 1,607 (0,61), 1,750 (0,61), 1,760 (0,78), 1,784 (1,05), 1,794 (1,28), 1,816 (0,50), 1,837 (0,50), 1,843 (0,57), 1,874 (0,43), 1,979 (0,82), 2,012 (1,26), 2,024 (0,52), 2,032 (0,55), 2,044 (0,95), 2,057 (0,40), 2,122 (0,46), 2,148 (0,80), 2,156 (1,00), 2,164 (1,00), 2,173 (0,67), 2,181 (0,70), 2,190 (0,69), 2,199 (0,54), 2,207 (0,59), 2,225 (0,71), 2,242 (0,64), 2,259 (0,74), 2,275 (0,64), 2,294 (0,45), 2,310 (0,65), 2,319 (0,47), 2,329 (0,48),

2,338 (0,58), 2,348 (0,54), 3,602 (0,89), 3,631 (16,00), 3,642 (4,12), 3,652 (14,26), 3,902 (1,14), 3,911 (2,10), 3,920 (1,33), 3,943 (0,45), 4,069 (1,14), 4,078 (1,82), 4,086 (0,98), 4,492 (0,55), 5,674 (0,91).

Ejemplo, 112A

(1*R*,3*S*)-3-[(2*S*,5*R*)-3,6-Dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina-2-il]ciclohexano-1-ol (2 estereoisómeros presentes)



(3*S*)-3-[(2*S*,5*R*)-3,6-dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina-2-il]ciclohexano-1-ona (Ejemplo, 111A, 5,70 g, 20,3 mmol) se disolvió en metanol (50 mL) y se enfrió a 0 °C. Se añadió tetrahidroborato de sodio (769 mg, 20,3 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió tetrahidroborato de sodio adicional (769 mg, 20,3 mmol) y se siguió agitando a temperatura ambiente. Este paso se repite 2 veces más con 0,5 eq de tetrahidroborato de sodio. El metanol se evaporó y el residuo se diluyó con agua y acetato de etilo. Después de agitar durante varios minutos, las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y el residuo se concentró a presión reducida para obtener 5,7 g de un aceite amarillo. El producto crudo se purificó mediante la cromatografía flash en columna de gel de sílice (gradiente ciclohexano - acetato de etilo ciclohexano 5-30%) para obtener 4,95 g (rendimiento del 86%) del compuesto del título.

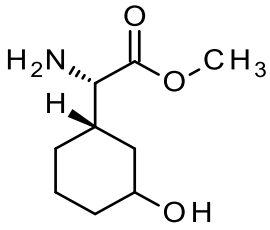
LC-MS (método 10): R_t = 1,87 min; MS (ESI pos): m/z = 283,2 $[M+H]^+$; R_t = 1,91 min; MS (ESI pos): m/z = 283,2 $[M+H]^+$

^{1}H-RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,589 (1,83), 0,600 (6,10), 0,605 (2,52), 0,617 (6,02), 0,739 (0,91), 0,768 (0,96), 0,798 (0,42), 0,898 (0,47), 0,934 (0,50),

0,997 (6,80), 1,014 (7,00), 1,157 (0,53), 1,175 (0,92), 1,193 (0,73), 1,203 (0,72), 1,211 (0,59), 1,227 (0,47), 1,235 (0,72), 1,243 (0,51), 1,313 (0,52), 1,321 (0,63), 1,352 (0,99), 1,398 (2,43), 1,485 (0,59), 1,515 (0,56), 1,668 (0,44), 1,676 (0,56), 1,684 (0,44), 1,708 (0,51), 1,745 (0,57), 1,774 (0,54), 1,879 (0,58), 1,887 (0,56), 1,988 (1,39), 2,185 (0,54), 2,193 (0,57), 2,202 (0,73), 2,210 (0,75), 2,219 (0,55), 2,227 (0,55), 3,611 (7,06), 3,617 (3,03), 3,622 (16,00), 3,629 (14,28), 3,845 (0,55), 3,854 (0,50), 3,862 (1,17), 3,871 (2,39), 3,880 (1,79), 3,933 (1,11), 3,942 (1,74), 3,951 (0,86), 4,215 (0,59), 4,223 (0,57), 4,431 (2,16), 4,443 (2,10).

Ejemplo, 113A

Acetato de metilo (2*S*)-amino[(1*S*)-3-hidroxiciclohexilo] (2 estereoisómeros presentes)



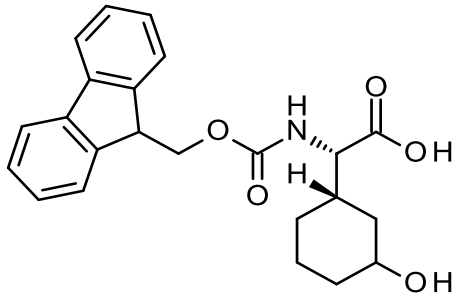
(3*S*)-3-[(2*S*,5*R*)-5-isopropil-3,6-dimetoxi-2,5-dihidropirazina-2-il]ciclohexanol (Ejemplo, 112A, 4,95 g, 17,5 mmol) se disolvió en metanol (45 mL) y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió una solución acuosa de ácido clorhídrico al 10% (15 mL) y la mezcla de reacción se agitó durante un corto tiempo a 0 °C, luego se dejó agitar a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró, el residuo se diluyó con DCM y luego se añadió una solución acuosa de carbonato de sodio (150 mL, 2,0 M, 300 mmol). Se agitó la mezcla y luego se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo dos veces con DCM. La capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó mediante la cromatografía flash en columna de gel de sílice (DCM: metanol 95+5) para obtener 1,92 g (rendimiento del 58%) del compuesto del título.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: -0,008 (1,04), 0,008 (0,93), 0,760 (0,69), 0,777 (0,71), 0,834 (0,61), 0,867 (1,92), 0,875 (1,16), 0,885 (1,54), 0,892

(1,18), 0,910 (0,45), 0,922 (0,61), 0,942 (1,05), 0,951 (0,95), 0,973 (1,17), 0,981 (1,06), 1,003 (0,54), 1,012 (0,50), 1,157 (0,67), 1,165 (0,41), 1,190 (0,65), 1,198 (0,44), 1,223 (0,42), 1,375 (0,69), 1,407 (0,79), 1,498 (0,52), 1,513 (0,89), 1,519 (0,95), 1,527 (0,74), 1,549 (0,69), 1,633 (2,72), 1,671 (0,69), 1,680 (0,78), 1,753 (1,26), 1,783 (1,67), 1,959 (0,49), 2,086 (0,85), 3,096 (0,46), 3,110 (0,48), 3,138 (1,12), 3,151 (1,10), 3,162 (1,07), 3,175 (1,02), 3,276 (0,43), 3,288 (0,55), 3,593 (0,71), 3,603 (4,85), 3,612 (16,00), 3,626 (1,87), 3,633 (0,96), 3,637 (1,57), 4,232 (0,60), 4,240 (0,55), 4,481 (1,83), 4,492 (1,73), 5,754 (0,68).

Ejemplo, 114A

Ácido acético (2*S*)-2-{[(9*H*-Fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo]amino}-2-[(1*S*)-3-hidroxiciclohexil] (2 estereoisómeros presentes)



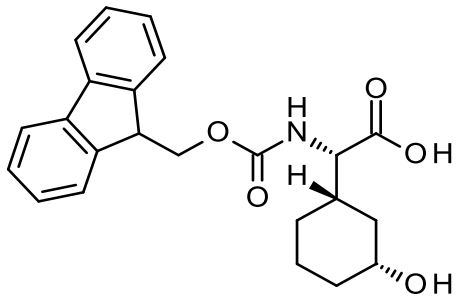
Se añadió al metanol (40 mL) el acetato de metilo (2*S*)-amino[(1*S*)-3-hidroxiciclohexilo] (Ejemplo, 113A, 1,92 g, 10,3 mmol) y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió una solución de hidróxido de sodio (10 mL, 1,0 M, 10 mmol) y se agitó la mezcla de reacción durante 1,5 h a temperatura ambiente y luego durante 1 h a 50 °C. Se añadió a la solución agua (37 mL), carbonato de hidrógeno sódico (861 mg, 10,3 mmol) y carbonato de sodio (1,43 g, 13,5 mmol). El metanol se evaporó y la capa acuosa se diluyó con 1,4-dioxano (30 mL). La suspensión se enfrió a 0 °C y se añadió (9H-fluoren-9-il)carbonocloruro de metilo (CAS-RN: 28920-43-6, 3,98 g, 15,4 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió agua y MTBE y se separó la capa orgánica. La capa acuosa se acidificó y se extrajo tres veces con DCM. Las

capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro y se filtraron. El producto crudo se purificó mediante la cromatografía flash en columna de gel de sílice (DCM: metanol/HOAc 95+5+1) para obtener 2,22 g (rendimiento del 55%) del compuesto del título.

LC-MS (método 10): R_t = 1,62 min; MS (ESI pos): m/z = 396,18 $[M+H]^+$; R_t = 1,67 min; MS (ESI pos): m/z = 396,18 $[M+H]^+$

Ejemplo, 115A

Ácido acético (2*S*)-2-({[(9*H*-Fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}amino)-2-[(1*S*,3*R*)-3-hidroxiciclohexil] (diastereómero 1)



Diastereómero 1

El ácido acético (2*S*)-{[(9*H*-Fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo]amino}[(1*S*)-3-hidroxiciclohexil] (Ejemplo, 114A, 2,22 g) se purificó mediante cromatografía quiral utilizando el método descrito en el Ejemplo, 96 A para obtener 890 mg (100% de pureza, 40% de rendimiento, 99% ee) de diastereómero 1.

LC-MS (método 10): R_t = 1,62 minutos; MS (ESI pos): m/z = 396,2 $[M+H]^+$

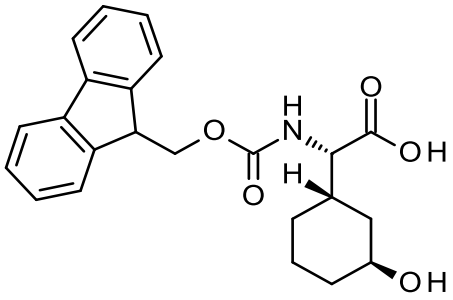
H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,878 (0,88), 0,909 (1,80), 0,940 (2,23), 0,962 (1,87), 0,986 (2,99), 1,025 (4,63), 1,053 (3,69), 1,083 (1,14), 1,151 (1,18), 1,184 (2,16), 1,217 (1,71), 1,249 (0,53), 1,492 (2,55), 1,523 (2,32), 1,668 (2,86), 1,701 (2,42), 1,779 (6,54), 1,802 (4,90), 2,073 (4,22), 3,875 (0,46), 3,900 (3,08), 3,916 (3,51), 3,921 (3,52), 3,936 (2,67), 4,197 (1,31), 4,211 (3,35), 4,223 (9,23), 4,238 (12,01), 4,242 (10,59), 4,253 (6,34), 4,270 (3,91), 4,296 (0,72), 4,563 (2,04), 7,312 (6,21), 7,331 (14,61), 7,349 (9,50), 7,402 (9,30), 7,420 (15,31),

7,439 (6,83), 7,603 (4,81), 7,624 (4,95), 7,752 (11,74), 7,770 (10,65), 7,884 (16,00), 7,903 (14,82), 8,155 (0,69).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 116A

Ácido acético (2*S*)-2-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}amino)-2-[(1*S*,3*S*)-3-hidroxiciclohexil]ácido (diastereómero 2)



También se aisló durante la cromatografía quiral de la mezcla diastereomérica del ácido acético (2*S*)-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}amino)[(1*S*,3*S*)-3-hidroxiciclohexil] (Ejemplo, 114A) fue de 280 mg (pureza del 95%, rendimiento del 12%) del diastereómero 2.

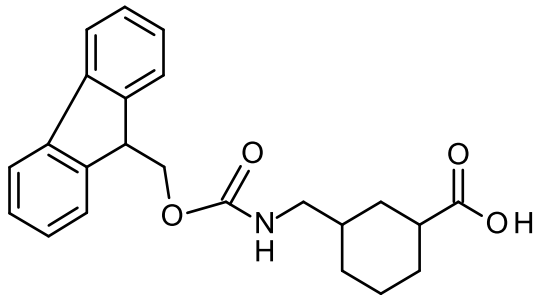
LC-MS (método 10): R_t = 1,67 minutos; MS (ESI pos): m/z = 396,2 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,862 (0,81), 0,879 (0,71), 1,024 (0,76), 1,055 (1,68), 1,084 (1,84), 1,113 (1,00), 1,274 (1,39), 1,308 (2,53), 1,339 (1,79), 1,404 (4,60), 1,430 (3,90), 1,498 (3,23), 1,531 (6,31), 1,566 (4,20), 1,609 (2,04), 1,640 (1,55), 2,179 (1,80), 2,328 (0,51), 2,670 (0,47), 3,820 (0,62), 3,839 (0,86), 3,858 (0,76), 3,904 (4,71), 3,920 (3,46), 3,925 (3,34), 3,941 (2,46), 4,195 (1,38), 4,210 (3,69), 4,223 (9,20), 4,238 (10,72), 4,244 (8,66), 4,254 (7,18), 4,272 (6,16), 7,309 (5,80), 7,328 (13,47), 7,346 (8,67), 7,400 (9,17), 7,419 (15,07), 7,437 (6,77), 7,487 (3,68), 7,508 (3,60), 7,546 (0,67), 7,637 (0,61), 7,748 (11,33), 7,767 (10,18), 7,883 (16,00), 7,901 (14,74).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 117A

Ácido ciclohexanecarboxílico 3-(9*H*-Fluoren-9-ilmetoxi)carbonilo]amino}metilo) (racemato)



El ácido ciclohexanecarboxílico 3-{[(*tert*-Butoxicarbonil)amino]metilo}(racemato) (CAS RN: 145149-55-9, 1,00 g, 3,89 mmol) se disolvió en diclorometano (20 mL, 310 mmol), se añadió ácido trifluoroacético (20 mL, 260 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. La solución se evaporó y el residuo se disolvió en acetona (15 mL). Se agregó agua (10 mL), carbonato de hidrógeno sódico (6,53 g, 77,7 mmol) y 1-({[(9H-fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}oxi)pirrolidina-2,5-diona (CAS-RN: 82911-69-11,38 g, 4,08 mmol). La suspensión se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió carbonato de hidrógeno sódico (6,53 g, 77,7 mmol) y se dejó que la mezcla de la reacción se agitara durante 1 h a temperatura ambiente. La suspensión se diluyó con agua y se extrajo con MTBE. La capa acuosa se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (1M) y luego se extrajo tres veces con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y luego se concentraron y evaporaron, para obtener tres fracciones que contenían el producto: 130 mg (pureza del 96%, rendimiento del 8%), 127 mg (pureza del 96%, rendimiento del 8%), 51,0 mg (rendimiento del 3%).

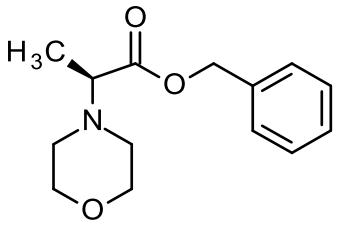
LC-MS (método 9): R_t = 1,01 minutos; MS (ESI pos): m/z = 380 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,736 (0,49), 0,759 (1,44), 0,790 (1,73), 0,821 (0,80), 0,851 (0,96), 0,882 (2,75), 0,913 (2,99), 0,944 (1,23), 1,083 (0,45), 1,120 (0,52), 1,153 (1,38), 1,182 (3,81), 1,206 (3,18), 1,235 (1,28), 1,418 (1,48), 1,598 (1,97), 1,630 (2,23), 1,717 (2,24), 1,739 (1,48), 1,747 (1,53), 1,835 (1,93), 1,862 (3,95), 1,897 (2,04), 2,074 (2,00), 2,123 (1,19), 2,130 (1,10), 2,152 (2,02), 2,174 (0,85), 2,181 (0,95), 2,524 (1,06), 2,785 (0,60), 2,801 (1,06), 2,818 (2,22), 2,835 (3,08), 2,849 (2,89), 2,862 (3,29), 2,878 (2,21), 2,895 (1,16), 2,911 (0,57), 4,188 (1,46), 4,206 (3,84), 4,223 (3,22), 4,238 (0,88), 4,253 (0,91), 4,287 (11,07), 4,304 (6,87), 4,333 (0,64), 4,351 (0,40), 4,451 (0,68), 7,306 (6,09), 7,324 (16,00), 7,341 (10,19), 7,392 (6,85), 7,410 (10,96), 7,429 (4,86), 7,459 (0,43), 7,626 (0,73), 7,643 (0,75), 7,683 (9,67), 7,702 (8,66), 7,875 (11,34), 7,894 (10,10), 12,028 (1,95).

Este aminoácido se usó en SPPS.

Ejemplo, 118A

Bencilo (2S)-2-(morfolina-4-il)propanoato



La L-alanina (589 mg, 6,61 mmol), el 1-bromo-2-(2-bromoetoxi)etano (910 µL, 7,3 mmol) y el carbonato de sodio se disolvieron en etanol y la solución se reflujo durante 2 días. Se dejó que la suspensión llegara a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se evaporó, se suspendió en etanol (30 mL) y se añadió ácido clorhídrico 3M para ajustar el pH (a un pH = 3). La suspensión se filtró y el filtrado se evaporó. El residuo se disolvió en DMF (20 mL). Se añadieron carbonato de cesio (1,08 g, 3,30 mmol) y (bromometil)benceno (1,6 mL, 13 mmol) y se agitó la mezcla durante 2 días a temperatura ambiente. Luego se añadió agua y luego la solución se purificó mediante HPLC de fase inversa

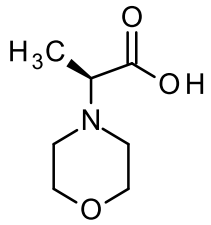
(columna: Reprosil; C18; 10 µm; 125 x 30 mm; eluyente ACN/H2O con un modificador de HCOOH al 0,1%; flujo: 75 mL/min; gradiente: 0-5,50 min 10/90; inyección de la muestra hasta 3,00 min; 5,50-17,65 min gradiente hasta 95/5; 17,65-19,48 min 95/5; 19,48-19,66 min gradiente hasta 10/90; 19,66-20,72 min 10/90;). Las fracciones deseadas se combinaron y liofilizaron para proporcionar 800 mg (98% de pureza, 48% de rendimiento) del compuesto del título como un aceite incoloro; ee >99%.

LC-MS (método 9): R_t = 0,51 minutos; MS (ESI pos): m/z = 250 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,191 (10,46), 1,205 (10,52), 2,462 (0,66), 2,469 (0,77), 2,473 (0,76), 2,485 (1,55), 2,521 (1,43), 2,562 (0,63), 3,330 (0,93), 3,344 (2,66), 3,358 (2,62), 3,372 (0,86), 3,499 (0,46), 3,506 (0,63), 3,511 (0,45), 3,521 (2,34), 3,530 (3,52), 3,532 (3,50), 3,538 (3,54), 3,549 (2,18), 3,564 (0,56), 5,101 (0,60), 5,126 (5,99), 5,131 (5,75), 5,156 (0,57), 7,323 (0,69), 7,327 (0,52), 7,332 (1,27), 7,341 (1,23), 7,343 (0,94), 7,350 (1,14), 7,358 (0,50), 7,369 (1,15), 7,377 (16,00), 7,386 (6,48), 7,392 (0,46).

Ejemplo, 119A

Ácido propiónico (2S)-2-(Morfolina-4-il)



El paladio (10% en el carbón activado) (100 mg) se humedeció con metanol en argón. Después, el bencilo (2S)-2-(morfolina-4-il)propanoato (Ejemplo, 118A, 800 mg, 3,21 mmol) se disolvió en metanol (100 mL) y el paladio humedecido en el carbón activado se añadió a la solución en argón. A continuación, la suspensión se hidrogenó durante 2 horas a presión ambiente bajo una atmósfera

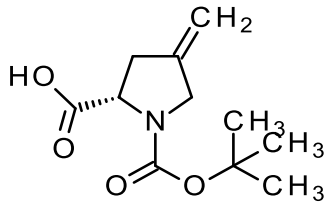
de hidrógeno. El recipiente se purgó de hidrógeno con argón y la suspensión se filtró sobre celita. El filtrado se evaporó, y el residuo se disolvió en MeCN/H_2O y se liofilizó para proporcionar 501 mg (>99% de pureza, 98% de rendimiento) del compuesto del título como un sólido marrón claro.

LC-MS (método 9): R_t = 0,16 minutos; MS (ESI pos): m/z = 160 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (500 Mhz, óxido de deuterio) δ [ppm]: 1,519 (16,00), 1,534 (15,96), 3,695 (1,39), 3,709 (4,02), 3,724 (3,89), 3,738 (1,30).

Ejemplo, 120A

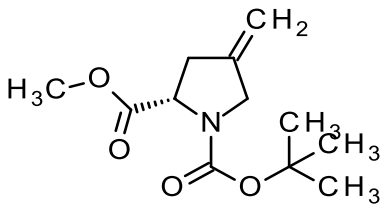
1-(Tert-butoxicarbonil)-4-etilideno-L-prolina



El bromuro de metilo(trifenil)fosfonio (34,7 g, 97,1 mmol) se suspendió en 400 mL de THF. Se añadió gota a gota una solución de KHMDS en tolueno (146,6 mL, 15% p/v, 97,1 mmol) a temperatura ambiente y se agitó durante una hora a temperatura ambiente. Luego, la solución se enfrió a 0 °C, y se añadió 1-(tert-butoxicarbonil)-4-oxo-L-prolina (11,1 g, 48,6 mmol) en porciones. La mezcla se agitó 2,5 horas a temperatura ambiente. Se añadió agua a la mezcla de reacción. La mezcla se hizo ligeramente ácida con una solución de ácido cítrico al 10% y se extrajo tres veces con acetato de etilo. La capa combinada de acetato de etilo se lavó con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio y luego se secó al vacío para obtener una resina gruesa de color naranja. El producto crudo se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

Ejemplo, 121A

1- Tert-butil 2-metilo (2S)-4-metilidenepirrolidina-1,2-dicarboxilato



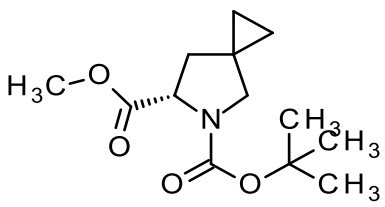
El 1-(tert-butoxicarbonil)-4-etilideno-L-prolina crudo (ejemplo, 120A) (11,0 g, 48,6 mmol) se disolvió en DMF (60 mL). Se añadió carbonato de potasio (10,1 g, 72,9 mmol), luego se añadió yodometano (4,5 mL, 73 mmol), y luego se agitó la mezcla durante la noche a temperatura ambiente. El DMF se eliminó con un evaporador rotativo, se añadió acetato de etilo, y luego la mezcla se lavó una vez con agua. La fase acuosa se volvió a extraer una vez con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de magnesio y luego se secaron al vacío para obtener el producto crudo. El producto crudo se disolvió en DCM y se purificó mediante cromatografía en fase normal utilizando un sistema de cromatografía flash Biotage Isolara, empleando un eluyente de ciclohexano-acetato de etilo (85/15) para obtener 10,2 g (80%) del compuesto de título como aceite amarillo.

LC-MS (método 10): R_t = 1,77 min; MS (ESI pos): m/z = 186 M-C4H8$^+$

^{1}H-NMR (500 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,339 (16,00), 1,405 (10,53), 3,313 (10,02), 3,627 (3,90), 3,938 (2,21), 3,967 (0,60), 4,331 (0,51), 4,337 (0,54), 4,350 (0,57), 4,356 (0,59), 4,363 (0,47), 4,367 (0,42), 4,992 (1,33), 5,019 (1,17).

Ejemplo, 122A

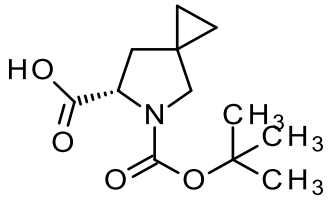
5-*Tert*-butil 6-metilo (6S)-5-azaspiro[2.4]heptano-5,6-dicarboxilato



En argón, el dietilzinc (22 mL, 1,0 M en hexano, 22 mmol) se disolvió en DCM anhidro (27 mL). La solución se enfrió a 5 °C y luego se añadió una solución de TFA (1,7 mL, 22 mmol) en DCM (17 mL) gota a gota durante un período de 1 hora. La solución se agitó a 5 °C durante 30 minutos más. Se añadió rápidamente una solución de diyodometano (1,8 mL, 22 mmol) en DCM anhidro (5 mL) gota a gota, y la solución resultante se agitó a 5 °C durante 30 min. Luego, se añadió a la mezcla de reacción una solución de 1-terc-butil 2-metilo (2S)-4-metilidenepirrolidina-1,2-dicarboxilato (ejemplo, 121A) (2,70 g, 11,2 mmol) en DCM anhidro (5 mL). La mezcla de reacción se agitó en un baño de hielo descongelante durante 90 horas, y luego se apagó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio. Las fases se separaron, y la fase acuosa se volvió a extraer con DCM una vez. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, y luego se evaporaron para proporcionar 1,57 g del producto crudo como un aceite amarillo. El aceite se disolvió en acetato de etilo (54 mL), se añadió secuencialmente di-*tert*-butildicarbonato (2,6 mL, 11 mmol) y trietilamina (3,1 mL, 22 mmol), y luego la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La reacción se controló utilizando TLC (éter de petróleo/acetato de etilo 10/1; coloreado con ninhidrina). El producto crudo se purificó mediante cromatografía en fase normal utilizando un sistema de cromatografía flash Biotage Isolara (cartucho Ultra de 100 g Biotage), utilizando un gradiente eluyente de éter de petróleo - acetato de etilo (EA) (2% a 18% EA) para obtener 1,02 g del compuesto de título como aceite incoloro.

Ejemplo, 123A

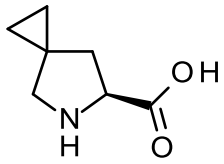
Ácido (6S)-5-(Tert-butoxicarbonil)-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico



El 5-Tert-butil 6-metilo (6S)-5-azaspiro[2.4]heptano-5,6-dicarboxilato (ejemplo, 122A) (2,50 g, 9,79 mmol) se disolvió en un 50% de THF/agua (40 mL). Se añadió hidróxido de litio (703 mg, 29,4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El THF se eliminó utilizando un evaporador rotativo, y la solución acuosa se diluyó con agua adicional (20 mL) y se lavó una vez con MTBE. La fase acuosa separada se acidificó con ácido clorhídrico 1M (30 mL) y luego se extrajo dos veces con DCM. La fase orgánica combinada se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y luego se concentró para obtener 2,4 g del compuesto del título como un aceite incoloro.

Ejemplo, 124A

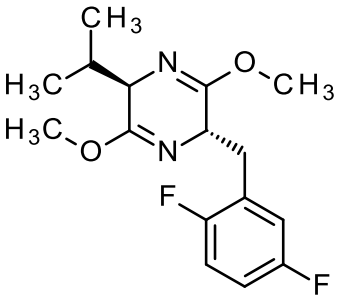
Ácido (6S)-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico



El ácido (6S)-5-(tert-butoxicarbonil)-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (ejemplo, 123A) (2,36 g, 9,79 mmol) se disolvió en DCM (50 mL). Se añadió ácido trifluoroacético (10 mL, 250 mmol), y la mezcla de la reacción se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. El control de la reacción se realizó mediante el uso de TLC (DCM/MeOH 9/1). La solución se evaporó y el producto crudo se secó al vacío para proporcionar el compuesto de título como un residuo marrón. Esto se utilizó directamente para el siguiente paso (protección Fmoc, ver Ejemplo, 82A).

Ejemplo, 15A

(2S,5R)-2-[(2,5-difluorofenil)metilo]-3,6-dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina



La reacción se realizó en argón. El (2R)-3,6-dimetoxi-2-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina (CAS-RN: 109838-85-9) (2,9 mL, 16 mmol) se disolvió en THF anhidro (40 mL) y la solución se enfrió a -78 °C. A esta temperatura, se añadió lentamente gota a gota una solución de n-butil-litio (10 mL, 1,6 M en hexano, 16 mmol) y la solución resultante se agitó 15 min a -78 °C. Luego se añadió una solución de 2-(bromometil)-1,4-difluorobenceno (4,05 g, 19,5 mmol) en THF anhidro (15 mL) y se siguió agitando hasta que la reacción llegó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante una hora adicional a temperatura ambiente, mientras se monitorizaba el progreso de la reacción mediante HPLC. La mezcla se apagó con agua y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron una vez con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de magnesio y luego se concentraron para obtener 5,46 g de un aceite amarillo crudo. El aceite se purificó por cromatografía de fase normal utilizando un sistema de cromatografía flash Biotage Isolara (cartucho Ultra de 100 g Biotage), utilizando un eluyente de ciclohexano-acetato de etilo (EA) (95/5) para obtener 4,16 g (82%) del compuesto del título como aceite.

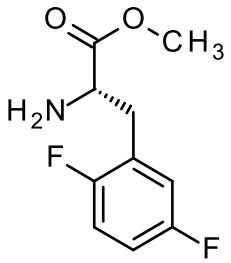
LC-MS (método 10): R_t = 2,44 minutos; MS (ESI pos): m/z = 311 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 0,563 (6,79), 0,580 (6,97), 0,933 (6,65), 0,951 (6,88), 2,103 (0,58), 2,111 (0,61), 2,120 (0,78), 2,129 (0,79), 2,137 (0,59), 2,145 (0,57), 2,864 (0,79), 2,882 (0,83), 2,898 (1,08), 2,915 (1,09), 3,089 (1,06), 3,101 (1,10), 3,123 (0,82), 3,134 (0,81), 3,313 (7,20), 3,518 (1,28), 3,527 (2,46),

3,535 (1,37), 3,566 (16,00), 4,293 (0,58), 4,304 (1,07), 4,313 (1,08), 4,321 (1,01), 4,330 (0,58), 6,992 (0,47), 7,000 (0,66), 7,005 (0,63), 7,015 (1,06), 7,023 (0,71), 7,028 (0,64), 7,037 (0,63), 7,075 (0,63), 7,084 (0,91), 7,095 (0,74), 7,105 (0,66), 7,131 (0,68), 7,143 (0,73), 7,154 (1,05), 7,166 (1,04), 7,177 (0,45), 7,189 (0,40).

Ejemplo, 126A

Metilo 2,5-difluoro-L-fenilalaninato



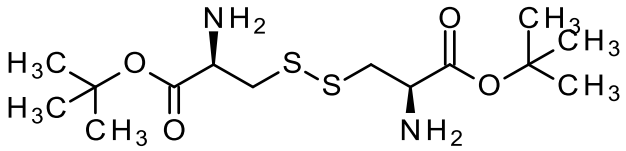
El (2S,5R)-2-[(2,5-difluorofenil)metilo]-3,6-dimetoxi-5-(propan-2-il)-2,5-dihidropirazina (ejemplo, 125A) (4,15 g, 13,4 mmol) se disolvió en metanol (35 mL) y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió una solución de un ácido clorhídrico acuoso al 10% (12 mL) y la solución se agitó a 0 °C durante algunos minutos. Luego se dejó que la solución de reacción llegara a temperatura ambiente y se agitó durante tres horas a esta temperatura. El metanol se evaporó. El residuo se diluyó con DCM, se añadió 2M de solución acuosa de carbonato de sodio (120 mL) y la mezcla resultante se agitó vigorosamente durante unos minutos. Las capas se separaron y la fase acuosa se extrajo dos veces con DCM. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y luego se concentraron para obtener 3,97 g de un líquido incoloro. El líquido crudo se purificó por cromatografía de fase normal utilizando un sistema de cromatografía flash Biotage Isolara (cartucho Ultra de 100 g Biotage), utilizando un eluyente de gradiente de ciclohexano-acetato de etilo (EA) (10% a 75% EA) para proporcionar 2,27 g (79%) del compuesto de título como líquido incoloro.

LC-MS (método 13): R_t = 1,20 minutos; MS (ESI pos): m/z = 216 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO-d6) δ [ppm]: 1,833 (16,00), 2,733 (3,07), 2,753 (3,26), 2,767 (4,81), 2,787 (5,01), 2,889 (4,71), 2,904 (4,91), 2,923 (3,10), 2,938 (3,19), 3,315 (15,20), 3,401 (0,42), 3,553 (5,22), 3,568 (6,29), 3,572 (6,60), 3,768 (0,41), 7,060 (0,89), 7,069 (1,71), 7,081 (2,21), 7,090 (4,07), 7,101 (3,20), 7,111 (2,84), 7,120 (1,89), 7,151 (5,97), 7,163 (5,82), 7,174 (9,84), 7,186 (7,52), 7,196 (4,42), 7,208 (2,10).

Ejemplo, 127A

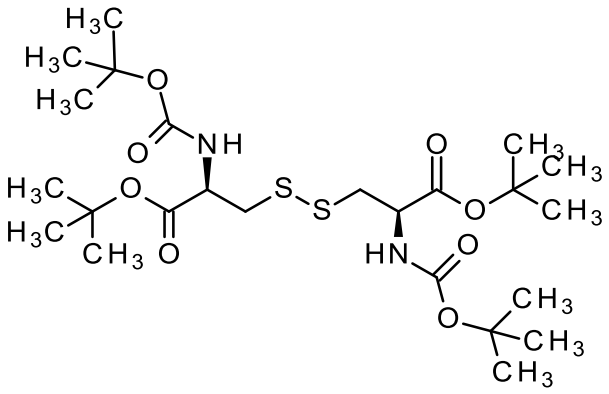
tert-Butil (2R)-2-amino-3-[[(2R)-2-amino-3-tert-butoxi-3-oxo-propil]disulfanil]propanoato



A la suspensión de la L-Cistina (CAS RN: 56-89-3) (10,00 g, 41,61 mmol) en acetato de tert-butil (63,22 g, 544,24 mmol, 73 mL) se añadió $HClO_4$ (18,26 g, 127,23 mmol, 11 mL, 70% de pureza) (70% en H_2O) gota a gota a 0 °C durante 0,5 h, luego se agitó la solución durante 17 h a 20 °C. Se añadió hielo y la solución se utilizó para el siguiente paso sin más purificación (14,67 g en teoría).

Ejemplo, 128A

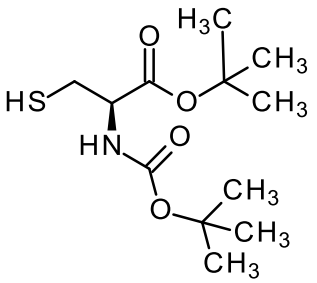
tert-Butil (2R)-3-[[(2R)-3-tert-butoxi-2-(tert-butoxicarbonilamino)-3-oxo-propil]disulfanil]-2-(tert-butoxicarbonilamino)propanoato



A la mezcla de tert-butil (2R)-2-amino-3-[[(2R)-2-amino-3-tert-butoxi-3-oxo-propil]disulfanil]propanoato (14,67 g en teoría, del Ejemplo, 127A) en agua (200 mL) y EA (200 mL) se le añadió Na_2CO_3 (30,00 g, 283,08 mmol) y Boc_2O (27,25 g, 124,85 mmol) a 0 °C, y se agitó la mezcla (el pH era de 8-9) durante 17 h a 20 °C. La mezcla se diluyó con EA (100 mL) y agua (200 mL). Se separó la capa orgánica, y la capa acuosa se extrajo con EA (200 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (200 mL), concentrada para obtener un residuo, el residuo se purificó por cromatografía en columna de gel silíceo (PE/EA=1/0 a 1/1) para obtener dos lotes del compuesto del título: 8,5 g de crudo como aceite marrón claro y 6,5 g como aceite marrón claro.
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,51, 1,61, 1,62. 1,64, 3,11, 3,12, 3,14, 3,16, 3,19, 3,203, 3,23, 3,24, 4,44, 4,46, 4,48, 4,49, 5,35, 5,37.

Ejemplo, 129A

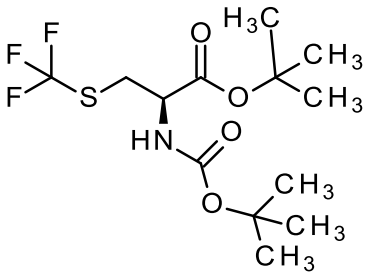
tert-Butil (2R)-2-(tert-butoxicarbonilamino)-3-sulfanil-propanoato



A la solución de tert-butil (2R)-3-[[(2R)-3-tert-butoxi-2-(tert-butoxicarbonilamino)-3-oxo-propil]disulfanil]-2-(tert-butoxicarbonilamino)propanoato (8,5 g, crudo, del ejemplo, 128A) en THF (150 mL) y agua (15 mL) se añadió tributilfosfano (3,77 g, 4,6 mL) a 0 °C durante 0,5 h, luego se agitó la solución durante 2 h a 20 °C. La mezcla se trabajó con otro lote, preparado a partir de 6,5 g de material raro (del ejemplo, 128A). Ambas mezclas de reacción se vertieron en agua (300 mL) y se extrajeron con acetato de etilo (150 mL x 2). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (300 mL), se secó con Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se concentró en el vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EA = 40/1 a 10/1) para obtener 12,5 g del compuesto del título como aceite incoloro, que se utilizó como puro. También se obtuvieron 6,5 g de un lote impuro que contenía residuos de tributilfosfina, pero se desecharon.
^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,45, 2,94, 2,95, 2,96, 2,97, 4,46, 4,47, 4,48, 4,49, 5,39, 5,41

Ejemplo, 130A

tert-Butil (2R)-2-(tert-butoxicarbonilamino)-3-(trifluorometilsulfanil)propanoato



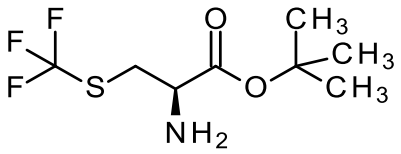
A una solución de 3,3-dimetil-1-(trifluorometil)-1,2-benziodoxol (18 g, 54,53 mmol) en el MeOH (150 mL) se añadió una solución de tert-butil (2R)-2-(tert-butoxicarbonilamino)-3-sulfanil-propanoato (14 g, 50,47 mmol, del ejemplo, 129A) en el MeOH (20 mL) a -78 °C en N_2 durante 30 min, y la reacción se agitó durante 1 h a esta temperatura y se convierte en una solución incolora. La

mezcla de la reacción se calentó a 20 °C, se agitó durante 1 h, y se concentró para obtener un residuo, que se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EA=1/0 a 40/1) dos veces para obtener 13,2 g del compuesto del título como aceite incoloro.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,47, 3,26, 3,28, 3,30, 3,31, 3,45, 3,46, 3,48, 3,50, 4,47, 4,48, 5,34, 5,35.

Ejemplo, 131A

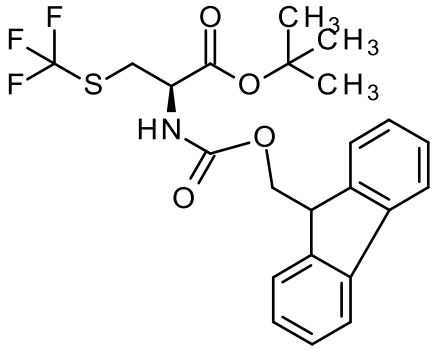
clorhidrato de tert-butil (2R)-2-amino-3-(trifluorometilsulfanil)propanoato



A una solución de tert-butil (2R)-2-(tert-butoxicarbonilamino)-3-(trifluorometilsulfanil)-propanoato (12,20 g, 35,32 mmol, del ejemplo, 130A) en DCM (10 mL) se añadió una solución de HCl/dioxano (4 M, 50 mL) y se agitó la reacción durante 3 h a 10 °C. La mezcla se concentró para obtener un sólido cristalino blanco, que se utilizó directamente para el siguiente paso.

Ejemplo, 132A

tert-Butil (2R)-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-3-(trifluorometilsulfanil)-propanoato



A la mezcla de clorhidrato de tert-butil (2R)-2-amino-3-(trifluorometilsulfanil)propanoato (crudo del ejemplo, 131A) en dioxano (80 mL) se le añadió $NaHCO_3$ saturado (80 mL), y Fmoc-OSu (19 g, 56,33 mmol), y la reacción (pH ~7-8) se agitó durante 17 h a 10 °C. La mezcla se concentró, y el residuo se diluyó con agua (100 mL), y luego se extrajo con EA (100 mL x 2). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 mL), se concentró y luego se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EA=40/1~10/1) para obtener 13 g del compuesto del título como aceite incoloro.

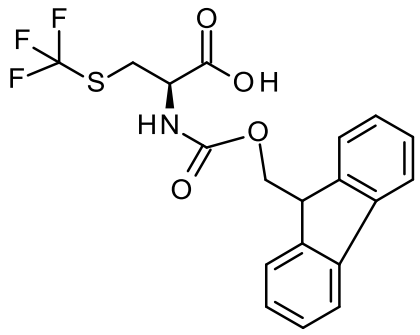
LC-MS (Método 15): R_t = 1,028 min; MS (ESI pos): m/z = 490,2 $[M+Na]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,45, 3,32, 3,47, 3,36, 3,49, 3,50, 4,16, 4,22, 4,24, 4,26, 4,37, 4,44, 4,46, 4,58, 5,62, 5,64, 7,33, 7,35, 7,40, 7,42, 7,44, 7,56, 7,61, 7,77, 7,79.

^{19}F-NMR: (376 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: -40,85.

Ejemplo, 133A

Ácido propiónico 2R)-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-3-(trifluorometilsulfanil)



A una solución de tert-butil (2R)-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-3-(trifluorometilsulfanil)-propanoato (13 g, 27,81 mmol) en DCM (15 mL) se le añadió TFA (30 mL) y tioanisol (15,75 g, 126,81 mmol, 15 mL), y la mezcla de reacción se agitó durante 17 h a 10 °C. La mezcla se concentró para obtener un residuo, que se diluyó con una solución saturada de $NaHCO_3$ (100 mL), y luego se extrajo con EA (50 mL x 2). La capa orgánica se lavó con 1M HCl

(50 mL), se concentró y luego se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (PE/EA=10/1, y luego con DCM/MeOH=40/1 a 5/1) para obtener 10 g del compuesto del título como una pureza sólida cristalina blanca: 98,8%. ^{1}H-NMR indicó que el producto contenía acetato de etilo, por lo que el sólido se volvió a disolver en DCM (80 mL), se concentró y luego se secó en alto vacío para obtener 9,67 g (23,22 mmol, 83,5% de rendimiento, 98,8% de pureza) del compuesto del título como un sólido cristalino blanco.

LC-MS (Método 15): R_t = 0,895 min; MS (ESI pos): m/z = 434,1 $[M+Na]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 3,25, 3,26, 3,32, 3,33, 3,93, 3,95, 4,22, 4,24, 4,26, 4,28, 4,30, 4,31, 6,95, 6,98, 7,31, 7,32, 7,33, 7,34, 7,39, 7,41, 7,42, 7,68, 7,70, 7,87, 7,89.

^{19}F-NMR: (376 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: -40,89

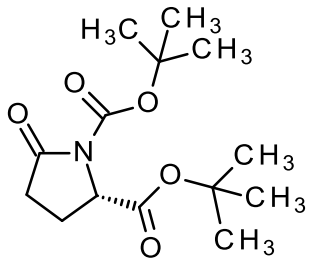
SFC quiral: R_t = 2,49 min, 99% ee

Condición de SFC quiral: AD-3_5CM_IPA (DEA)_10_20_3ML_T35 Columna: Chiralpak AD-3 50 x 4,6 mm I.D., 3 □m Fase móvil: iso-propanol (0,05% DEA) en CO_2 de 10% a 20% Velocidad de flujo: 3 mL/min Longitud de onda: 220 nm.

Este aminoácido se usó en SPPS. Este aminoácido también está disponible comercialmente (CAS-RN: 1994331-25-7.

Ejemplo, 134A

Di-tert-butil (2S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato



A una solución del compuesto tert-butil (2S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato (CAS-RN: 35418-16-7) (290 g, 1,57 mol, 1,00 eq) y DMAP (1,91 g, 15,66 mmol, 0,01 eq) en CH_3CN (2,00 L), se añadió Boc_2O (341 g, 1,57 mol, 359 mL,

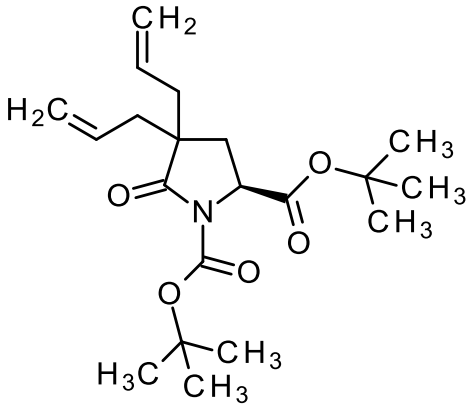
1,00 eq) a 5 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. La TLC demostró que el material de partida se había consumido completamente, y se formaron dos nuevas manchas (TLC) (PE/EA = 3/1, Rf = 0,43, Rf = 0,9). La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para eliminar el CH_3CN y el residuo se dividió entre DCM (1000 mL) y agua (1000 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (300 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y se concentró bajo presión reducida para obtener el producto crudo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2, PE/EA=100/1 a 10/1) para obtener el compuesto de título (260,00 g, 874,75 mmol, 55,72% de rendimiento, 96% de pureza) como sólido blanquecino.

LC-MS (Método 15): R_t = 0,873 min; MS (ESI pos): m/z = 308,0 $[M+Na]^+$, 331 $[M+2Na]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,44-1,42 (d, J=8,4, 8H), 1,97-1,92 (m, 1H), 2,22-2,19 (m, 1H), 2,43-2,40 (m, 1H), 2,58-2,49 (m, 1H), 4,42-4,39 (m, 1H).

Ejemplo, 135A

Di-tert-butil (2S)-4,4-dialil-5-oxo-pirrolidina-1,2-dicarboxilato



A una solución de di-terc-butil (2S)-5-oxopirrolidina-1,2-dicarboxilato (61,9 g, 208 mmol, 1,00 eq, del ejemplo, 134A) en THF (40,0 mL) se añadió LiHMDS (1 M, 437 mL, 2,10 eq) gota a gota a -73 °C y luego se agitó a -73 °C durante

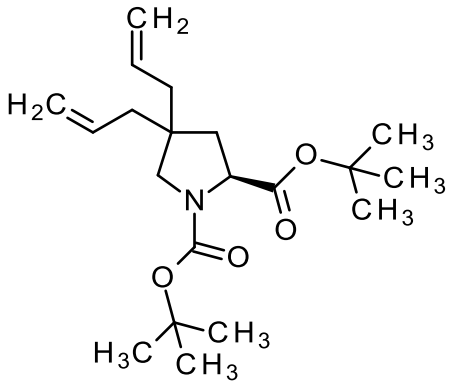
1 h. A la mezcla se le añadió bromuro de alilo compuesto (50,4 g, 416 mmol, 2,00 eq) gota a gota. Después de la adición, la mezcla se agitó a 15 °C durante 2 h. La TLC mostró al compuesto que el material de partida se había consumido completamente, y se formaron cuatro nuevos puntos (PE/EA = 3/1, R_f = 0,9, R_f = 0,8, R_f = 0,7, R_f = 0,1). La mezcla de reacción se apagó con cloruro de amonio acuoso saturado (1000 mL), se extrajo con DCM (500 mL x 3), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y luego se concentró bajo presión reducida para obtener un residuo crudo. El residuo se purificó por cromatografía en columna (SiO_2, PE/EA = 100/1 a 30/1) para permitir que el compuesto del título (100 g, 38% de rendimiento, 86% de pureza) sea un aceite incoloro.

LC-MS (Método 15): R_t = 1,044 min; MS (ESI pos): m/z = 411,4 $[M+2Na]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,49-1,43 (d, J=8,4, 8H), 1,87-1,82 (m, 1H), 2,22-2,18 (m,3H),

Ejemplo, 136A

Di-tert-butil (2S)-4,4-dialilpirrolidina-1,2-dicarboxilato



A una solución de di-tert-butil (2S)-4,4-dialil-5-oxo-pirrolidina-1,2-dicarboxilato (80,0 g, 188 mmol, 1,00 eq, del ejemplo, 135A) en THF (300 mL) se le añadió $LiBHEt_3$ (1 M, 225 mL, 1,20 eq) a -78 °C. Después de la adición, la mezcla se agitó a -78 °C durante 3 h. El LCMS mostró que se detectó la MS deseada. La TLC mostró que se formaron dos nuevas manchas (PE/EA = 3/1, Rf = 0,65, Rf = 0,8). La mezcla de reacción se apagó con carbonato de sodio acuoso sa-

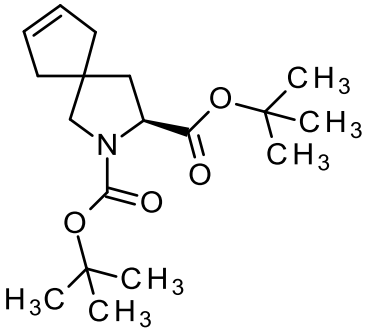
turado (50 mL) a 0 °C y luego se añadió 30% de H_2O_2 (1 mL) gota a gota a 0 °C. La mezcla se concentró a presión reducida para eliminar el THF y luego el residuo se diluyó con agua (1000 mL) y DCM (1000 mL). La fase acuosa se extrajo con DCM (300 mL x 3). La capa orgánica combinada se secó sobre el sulfato de sodio, se filtró y luego se concentró bajo presión reducida para obtener el producto crudo. El residuo crudo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2, PE/EA = 80/1 a 30/1) para permitir que el compuesto del título (56,0 g, 69% de rendimiento, 85% de pureza) sea un aceite incoloro.

LC-MS (Método 15): R_t = 1,192 min; MS (ESI pos): m/z = 390,3 $[M+K]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,53-1,47 (m, 18H), 2,13-1,98 (m, 2H), 2,22-2,15 (m,3H), 2,39-2,24 (m, 1H), 2,92-2,91 (m, 1H), 4,22-4,08 (m, 1H), 5,18-5,06 (m, 5H), 5,85-5,77 (m, 2H).

Ejemplo, 137A

Di-tert-Butil (3S)-2-azaspiro[4.4]no-7-ene-2,3-dicarboxilato



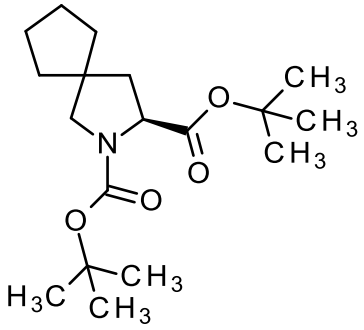
A una solución del catalizador de primera generación de Grubb (CAS RN: 172222-30-9) (2,85 g, 3,47 mmol, 0,05 eq) en DCM (400,00 mL) se añadió di-*tert*-butil (2S)-4,4-diilpirrolidina-1,2-dicarboxilato (25,0 g, 69,4 mmol, 1,00 eq, del ejemplo, 136A) gota a gota a 34 °C. Después de completar la adición, la mezcla se agitó a 34 °C en N_2 durante 1 h. La TLC mostró que se formaron dos nuevos puntos (PE/EA = 5/1, R_f = 0,6, R_f = 0,7). La mezcla de reacción se filtró y concentró bajo presión reducida para obtener el producto crudo. El residuo se

purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2, PE/EA = 1/0 a 80/1) para obtener el compuesto de título (12,0 g) como un aceite incoloro.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 1,46-1,43 (m, 18H), 1,92-1,87 (m, 1H), 2,45-2,22 (m, 5H), 3,49-3,29 (m, 2H), 4,21-4,19 (m, 1H), 5,64 (s, 2H).

Ejemplo, 138A

Di-*tert*-butil (3S)-2-azaspiro[4.4]nonano-2,3-dicarboxilato

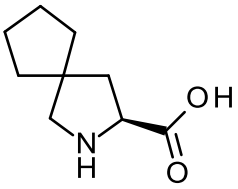


A una solución de di-tert-butil (3S)-2-azaspiro[4.4]no-7-ene-2,3-dicarboxilato (12,0 g, 37,1 mmol, 1,0 eq, del Ejemplo, 137A) en EtOH (100 mL) se le añadió Pd/C (10%, 0,1 g) bajo una atmósfera de N_2. La suspensión se desgasificó y se purgó 3 veces con gas H_2. La mezcla se agitó en H_2 (15 Psi) a 25 °C durante 16 h. Se filtró parte de la suspensión, y el filtrado se concentró, y se tomó la NMR de protones, lo que demostró que se había formado el producto deseado. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para obtener 10,0 g (crudo) del compuesto del título como un sólido blanco.

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 4,12-4,02 (m, 1H), 3,65-3,60 (m, 2H), 3,12-3,38 (m, 5H), 2,11-2,06 (m, 1H), 1,80-1,77 (m, 1H), 1,57-1,56 (m, 6H), 1,40-1,36 (m, 18H).

Ejemplo, 139A

Ácido (3S)-2-azaspiro[4.4]nonano-3-carboxílico

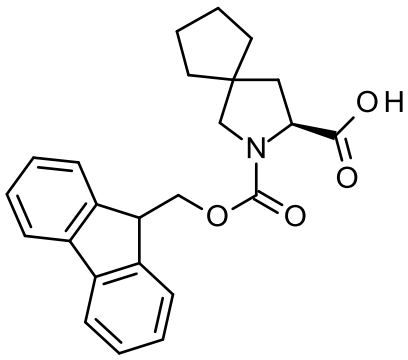


El compuesto di-terc-butil (3S)-2-azaspiro[4.4]nonano-2,3-dicarboxilato (12 g, 36,8 mmol, 1 eq, del Ejemplo, 138A) se añadió a una solución de HCl/EtOAc (150 mL), y luego la mezcla se agitó a 15 °C durante 1 h. El análisis de LC-MS mostró que el material de partida se consumió y se encontró la masa objetivo deseada. La mezcla de reacción se concentró en el vacío para eliminar el di-solvente, lo que permitió obtener 7,5 g (36,4 mmol, 99% de rendimiento) del compuesto de título crudo como un sólido blanco como una sal de cloruro de hidrógeno.

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO) δ [ppm]: 10,07 (s, 1H), 8,81 (s, 1H), 4,38-4,27 (m, 1H), 3,16-3,02 (m, 2H), 2,22-2,21 (m, 1H), 1,96-1,90 (m, 1H), 1,63-1,56 (m, 8H).

Ejemplo, 140A

Ácido(3S)-2-{[(9H-Fluoren-9-il)metoxi]carbonilo}-2-azaspiro[4.4]nonano-3-carboxílico



A una solución de ácido (3S)-2-azaspiro[4.4]nonano-3-carboxílico (5,1 g, 24,8 mmol, del ejemplo, 139A) y Fmoc-OSu (10,0 g, 29,7 mmol, 1,2 eq) en THF (70 mL) y H2O (70 mL) se le añadió $NaHCO_3$ (8,5 g, 101 mmol, 3,94, 4,08 eq). La mezcla se agitó a 15 °C durante 1 h. El análisis de LCMS mostró que el material de partida se consumió, y se obtuvo la masa objetivo deseada. Se añadió agua (200 mL) y la mezcla de reacción se extrajo con DCM (200 mL x 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y luego se concentró. El producto crudo se purificó mediante MPLC en fase inversa (EA) para obtener 6,9 g (17,5 mmol, 70% de rendimiento, 99% de pureza) del compuesto del título como un sólido amarillo.

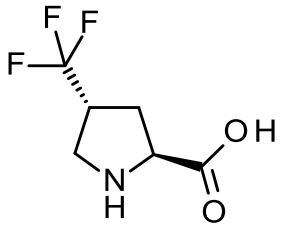
LC-MS (Método 15): R_t = 2,501 min; MS (ESI pos): m/z = 392,2 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 7,80-7,79 (d, *J* = 7,2, 2H), 7,59-7,54 (m, 2H), 7,44-7,42 (m, 2H), 7,36-7,35(m, 2H), 4,55-4,52 (m, 2H), 4,42-4,38 (m, 1H), 4,31-4,20(m, 1H), 3,34-3,17(m,2H), 2,33-2,28 (m, 1H), 2,13-2,08 (m, 1H), 1,73-1,50 (m, 8H).

Este aminoácido se usó en SPPS. Este aminoácido también está disponible comercialmente (CAS-RN: 394734-78-2).

Ejemplo, 141A

Ácido (2S,4R)-4-(Trifluorometil)pirrolidina-2-carboxílico



A una solución de ácido (2S,4R)-1-terc-butoxicarbonil-4-(trifluorometil)pirrolidina-2-carboxílico (7 g, 24,7 mmol, 1 eq) en DCM (70 mL) se le añadió TFA (8,00 mL, 108 mmol, 4,37 eq). La mezcla se agitó a 10 °C durante 4 h. El análisis de LCMS mostró que el material de partida se consumió y que se encontró la masa objetivo deseada. La mezcla de la reacción se con-

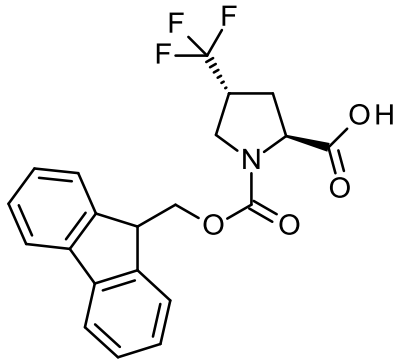
centró en el vacío y el producto crudo se utilizó directamente para el siguiente paso. El compuesto de título (7,34 g, 24,7 mmol, 100% de rendimiento, sal TFA) se obtuvo como un sólido blanco.

LC-MS (Método 15): R_t = 0,18 min; MS (ESI pos): m/z = 184,1 $[M+H]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ [ppm]: 4,51-4,48 (m, 1H), 3,82 (m, 1H), 3,57-3,55 (m, 1H), 2,65-2,62 (m, 2H), 2,53-2,49 (m, 1H).

Ejemplo, 142A

Ácido (2S,4R)-1-(9H-Fluoren-9-ilmetoxicarbonil)-4-(trifluorometil)pirrolidina-2-carboxílico



A una solución del ácido (2S,4R)-4-(trifluorometil)pirrolidina-2-carboxílico crudo (2 g, 6,73 mmol, 1 eq, sal TFA, del ejemplo, 141A) en H_2O (70 mL) y acetona (70 mL) se le añadió Na_2CO_3 (2,85 g, 26,9 mmol, 4 eq) y Fmoc-OSu (2,72 g, 8,08 mmol, 1,2 eq). La mezcla se agitó a 10 °C durante 12 h. El análisis del LCMS mostró solo un pico y que se encontró la masa deseada. El análisis de TLC (DCM/MeOH = 10/1) mostró que el material de partida se consumió y que aparecía una mancha principal (R_f = 0,4). Se añadió a la mezcla una solución de HCl (1M, 30 mL) hasta llegar a un pH = 2. La mezcla se extrajo con DCM (70 mL x 2), y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera (70 mL), se secó sobre Na_2SO_4, se filtró y luego se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (SiO_2, PE/EA = 10/1 a 5/1), obteniendo 1,7 g (61%, 97% de pureza) del compuesto de título como un sólido amarillo.

LC-MS (Método 15): R_t = 2,425 min; MS (ESI pos): m/z = 406,2 $[M+H]^+$, 406,2 $[M+Na]^+$

^{1}H-NMR (400 MHz, DMSO) δ [ppm]: 7,92-7,89 (m, 2H), 7,66-7,64 (m, 2H), 7,42-7,41 (m, 2H), 7,35-7,32 (m, 2H), 4,16-4,19 (m, 4H), 3,72-3,50 (m, 3H), 2,38-2,30 (m, 2H), 2,18 (s, 1H).

^{19}F-NMR (400 MHz, DMSO) δ [ppm]: -70,128, -70,275.

SFC quiral: R_t = 2,33 min, 99% ee

Condición de SFC quiral: AD-3_5CM_IPA (DEA)_10_20_3ML_T35 Columna: Chiralpak AD-3 50 x 4,6 mm I.D., 3 □m Fase móvil: iso-propanol (0,05% DEA) en CO_2 de 10% a 20% Velocidad de flujo: 3 mL/min Longitud de onda: 220 nm.

Este aminoácido se utilizó para SPPS.

Tabla 13: Péptidos de referencia

N.° de Referencia	**Identificador**	**Secuencia**	**Método de Preparación**
1	SFMI-1	GIC+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
2	SFMI-1 HCl	GIC+SRSLPPIC+IPD-OH (Sal HCl)	Método B, F
3	SFMI-1 amida	GIC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
A	Ala-1 SFMI-1	AIC+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
B	Ala-1 SFMI-1 amida	AIC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
C	Ala-1 SFMI-1 HCl amida	AIC+SRSLPPIC+IPD-NH_2 (Sal HCl)	Método A, F

Tabla 14: Péptidos según la invención

Ejemplo, N.º	**Secuencia**	**Método de Preparación**
4	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG1(10	Método A

	átomos))-NH_2	
5	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH (forma libre de sales)	Método B, C, G
6	(Nva)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(((N-Me)C))+I-NH_2	Método D
7	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG2(13 átomos))-NH_2	Método A
8	(beta-P)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
9	PIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
10	(Aib)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
11	A-((N-Me)I)-C+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
12	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método B
13	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B, C, D
14	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B
15	(2-(Pirrolidina)acetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
16	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG3(16 átomos))-NH_2	Método A
17	AIC+SRSLP-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
18	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método B
19	RIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
20	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+(2-[(1S,2S)-1-(Amino)-2-metilbutilo]-1,3-oxazol-4-ácido carboxílico)-D-NH_2	Método A
21	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPe-NH_2	Método D
22	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPn-NH_2	Método D
23	((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método C

24	((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
25	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
26	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
27	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2 (forma libre de sales)	Método A, G
28	(Nle)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método D
29	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH (sal HCl)	Método B, C, F
30	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
31	Ácido AIC+SRS-((tBu)A)-P-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B
32	(ACMP)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
33	((1R,3S,4S)-2-azabiciclo[2.2.1]heptano-3-ácido carboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
34	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG7(25 átomos))-NH_2	Método A
35	KIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
36	AIC+SRSLP-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B
37	AIC+SRS-((tBu)A)-PPIC+I-NH_2	Método A
38	RIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
39	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG1(10 átomos))-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
40	(Cit)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
41	AIC+SRS-((tBu)A)-P-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
42	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-((S)-3-(2H-tetrazol-5-il)ácido propanoico)-NH_2	Método D
43	((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-(Pen)+I-NH_2	Método C

44	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG9(31 átomos))-NH_2	Método A
45	AIC+SRS-((tBu)A)-P-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-ácido carboxílico)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
46	(Pip)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
47	(3-Amino-3-ácido metilbutírico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
48	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
49	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
50	(Orn)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
51	aIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
52	A-(Cba)-C+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
53	TIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método D
54	VIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
55	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG5-CH2CO2H (18 átomos))-NH_2	Método A
56	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-(Orn)-(Orn)-(Orn)-NH_2	Método A
57	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-((N-Me)G)-((N-Me)G)-((N-Me)G)-NH_2	Método A
58	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-((3-Carboxi)F)-NH_2	Método A
59	Ac-G-((N-Me)I)-C+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
60	IIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
61	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-NH_2	Método D
62	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG2(13 átomos))-NH_2	Método A
63	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG5-CH2CO2H (18 átomos))-NH_2	Método A

64	((N-Me)G)-IC+SRSL-((1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-ácido carboxílico)-PI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
65	LIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
66	(Abu)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-NH_2	Método A
67	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
68	LIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
69	(Nva)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
70	(Cit)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método D
71	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método D
72	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG2(13 átomos))-NH_2	Método A
73	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG4-CH2CO2H (15 átomos)) -NH_2	Método A
74	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG8(28 átomos))-NH_2	Método A
75	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A, H
76	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG1(10 átomos))-NH_2	Método A
77	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
78	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
79	KIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
80	((N-Isopropil-N-metilamino)acetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
81	WIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
82	(Azetidina-2-ácido carboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
83	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG5-	Método A

	CH2CO2H (18 átomos))-NH_2	
84	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG4(19 átomos))-NH_2	Método A
85	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(TTDS)-NH_2	Método A
86	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-OH	Método B
87	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-IC+IPD-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
88	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método D
89	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG5(22 átomos))-NH_2	Método A
90	((N-Me)G)-IC+SRSL-((1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-ácido carboxílico)-PI-(Pen)+IPE-NH_2	Método A
91	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
92	(ACMP)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
93	(3-Pal)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
94	(beta-2-tienilalanina)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
95	(Nle)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
96	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-OH	Método D
97	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG4(19 átomos))-NH_2	Método A
98	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
99	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-IC+I-NH_2	Método A
100	((N-Me)G)-((N-Me)I)-C+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+I-NH_2	Método D
101	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG3(16 átomos))-NH_2	Método A
102	AIC+SRSLP-(rel-(1R,3R,5R,6R)-6-(Trifluorometil)-2-	Método A

	azabiciclo[3.1.0]hexano-3-ácido carboxílico)-IC+IPD-NH_2	
103	SIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
104	AIC+SRS-((2-Bromo)F)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
105	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-NH_2	Método D
106	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
107	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG7(25 átomos))-NH_2	Método A
108	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
109	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A, H
110	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-OH	Método D
111	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-OH	Método D
112	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-OH	Método D
113	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG4-CH2CO2H (15 átomos))-NH_2	Método A
114	AIC+SRS-((tBu)A)-PP-((2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3R)-3-hidroxiciclohexil]ácido acético)-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
115	(Hoo)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
116	(Gamma-Abu)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
117	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-OH	Método D
118	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-OH	Método D
119	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(TTDS)-NH_2	Método A
120	A-((N-Me)I)-C+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
121	AIC+SRS-((t-Bu)A)-PPIC+ID-OH	Método B
122	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-NH_2	Método D
123	AIC+SRSLP-(Oic)-I-((N-Me)C)+IP-NH_2	Método A
124	HIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
125	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D

126	((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
127	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG3(16 átomos))-NH_2	Método A
128	AIC+SRS-((tBu)A)-P-((4-CF3)P)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
129	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-IC+I-NH_2	Método A
130	(2-(Piperidina)acetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
131	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-NH_2	Método D
132	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-NH_2	Método D
133	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG4-CH2CO2H (15 átomos))-NH_2	Método A
134	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-OH	Método D
135	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
136	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(TTDS)-NH_2	Método A
137	(2-(Dietilamino)acetilo)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
138	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-OH	Método D
139	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-NH_2	Método D
140	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG5(22 átomos))-NH_2	Método A
141	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG8(28 átomos))-NH_2	Método A
142	AIC+SRSL-(Pro-D2)-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Deuterio
143	TIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
144	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-OH	Método D
145	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG4(19 átomos))-NH_2	Método A
146	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG5(22	Método A

	átomos))-NH_2	
147	A-(Abu)-C+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
148	TIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método D
149	((N-Me)G)-((N-Me)I)-C+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
150	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG7(25 átomos))-NH_2	Método A
151	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG9(31 átomos))-NH_2	Método A
152	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-NH_2	Método A
153	AIC+SRSLP-(Oic)-IC+IPD-OH	Método B
154	HIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
155	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-OH (sal HCl)	Método B, F
156	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
157	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPP-NH_2	Método D
158	AIC+SRS-((tBu)A)-P-((4-CF3)P)-IC+IPD-NH_2	Método A, C
159	AIC+SRSLP-(Oic)-I-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
160	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-NH_2	Método D
161	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-OH	Método D
162	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método D
163	(Dab)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
164	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-((5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico)-OH	Método B
165	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A, D
166	(3-Amino-2,2-ácido dimetilpropanoico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
167	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-OH	Método D
168	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG8(28	Método A

	átomos))-NH_2	
169	(Abu)-IC+SRSLPP-(Chg)-C+IPD-NH_2	Método A
170	AIC+SRSLPPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
171	AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(ácido tranexámico)-NH_2	Método A
172	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
173	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-NH_2	Método D
174	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG3(16 átomos))-NH_2	Método A, D
175	((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
176	AIC+SRS-((tBu)A)-P-((2S,3aS,6aS)-Octahidrociclopenta[b]pirrol-2-ácido carboxílico)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
177	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+I-OH	Método B
178	(2-Pal)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
179	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-OH	Método D
180	AIC+SRSLP-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-OH	Método B
181	FIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
182	YIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
183	AIC+SRS-((tBu)A)-PP-((2S)-2-(Amino)-2-[(1S,3S)-3-hidroxiciclohexil]ácido acético)-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
184	((2S)-2[(Amino)-2-(tetrahidro-2H-pirano-4-il)]ácido acético)-IC+SRSLP-(Oic)-IC+I-OH	Método E
185	AIC+SRSLP-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
186	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+I-NH_2	Método A
187	(4-(Aminometil)ácido benzoico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
188	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-OH	Método D
189	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-OH	Método D

190	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-OH	Método D
191	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-NH_2	Método D
192	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-NH_2	Método D
193	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((3-Carboxi)F)-NH_2	Método A
194	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-((5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico)-OH	Método B
195	(Dap)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+I-NH_2	Método D
196	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-OH	Método D
197	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
198	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
199	A-(Nva)-C+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
200	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-NH_2	Método D
201	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-OH	Método D
202	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-NH_2	Método D
203	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-OH	Método D
204	(3-(Aminometil)ácido benzoico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
205	G-((N-Me)I)-C+SRSLPPIC+IPD-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
206	AIC+SRSLPP-(Chg)-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
207	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG1(10 átomos))-NH_2	Método D
208	(ACBA)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+I-NH_2	Método D
209	AIC+SRSLPP-(ácido (S)-2-amino-3-etilo-pentanoico)-C+IPD-NH_2	Método A
210	AIC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IDD-OH	Método B
211	FIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
212	GIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A

213	((N-Me)G)-GIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
214	((N-Me)G)-IC+SRS-((S)-(trifluorometil)-L-cisteína)-PPI-(Pen)+IP-NH2	Método A
215	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-OH	Método D
216	(Nva)-IC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
217	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
218	(4-Pal)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
219	(3-(Aminometil)ácido benzoico)-IC+SRS-((tBu)A)-PP-(Pen)+IP-NH_2	Método D
220	AIC+SRSLPPIC+(Cbg)-PD-NH_2	Método A
221	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG1(10 átomos))-NH_2	Método A
222	AIC+SRSLPP-(Chg)-C+IPD-OH	Método B
223	WIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
224	AIC+SRSLP-(Oic)-IC+IPD-NH_2	Método A
225	(Orn)-IC+SRSLPP-(Chg)-C+IPD-OH	Método B
226	(Ácido 2-(3-Piridil)acético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
227	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método D
228	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IPD-NH_2 (sal HCl)	Método A, F
229	(2-(Ciclohexilamino)acetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
230	(Abu)-IC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
231	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-OH	Método B
232	((N-Me)G)-IC+SRSLPPI-((N-Me)C)+IPD-OH	Método B, C
233	aIC+SRS-((S)-(trifluorometil)-L-cisteína)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
234	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-C+IPD-NH_2	Método A
235	AIC+SRS-((2,5-Difluoro)F)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A

236	(Orn)-IC+SRSLPPIC+I-NH_2	Método A
237	AIC+SRSL-(L-dehidroprolina)-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
238	AIC+SRS-((2-Cloro)F)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
239	(Ácido 4-(Aminometil)benzoico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
240	(Orn)-IC+SRS-((S)-(trifluorometil)-L-cisteína)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
241	Ácido AIC+SRSL-((4aR,6aR,9S,11aS)-11-Oxo-2,3,4,4a,6a,7,8,9,11,11a-decahidro-1H-pirido[3,2-e]pirrol[1,2-a]azepin-9-carboxílico)-IC+IPD-NH_2	Método A
242	(ácido trans-2-(3-(Amino)ciclohexil)acético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH2 (diastereómero #2)	Método A
243	((N,N-diMe)A)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-NH_2	Método A
244	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-NH_2	Método A, D
245	Ácido AIC+SRSLP-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico)-IC+IPD-NH_2	Método A
246	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-OH	Método B
247	AIC+SRSLPP-(Chg)-C+I-NH_2	Método A
248	AIC+SRS-((4-Fluoro)L)-PPIC+IPD-NH2	Método A
249	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2 (Acetato)	Método FA
250	((N-Me)P)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-NH_2	Método A
251	(ácido trans-2-(3-(Amino)ciclohexil)acético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2 (diastereómero #1)	Método A
252	AIC+SRSNPPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
253	((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-NH_2	Método A
254	AIC+SRSLPP-(Chg)-C+IPD-NH_2	Método A
255	(Ahx)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
256	IC+SRS-((tBu)A)-PP-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
257	kIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+I-NH_2	Método D

258	IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-OH	Método D
259	(Ácido piperidino-4-ilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método K
260	A-((N-Me)I)-C+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
261	G-((N-Me)I)-C+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
262	AIC+SRSLPP-(Cpg)-C+IPD-NH_2	Método A
263	(Gamma-Abu)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método D
264	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2 (Tartrato)	Método FA
265	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-OH	Método D
266	((N-Me)G)-((N-Me)G)-((N-Me)G)-((N-Me)G)-((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
267	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico)-P-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
268	AIC+SRS-((tBu)A)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
269	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
270	AIC+SRSLP-(Oic)-(Chg)-C+IPD-NH_2	Método A
271	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
272	((2-Tiomorfolina)acetilo)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
273	(Ácido ciclopropilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
274	(Ácido ciclopropilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
275	G-((N-Me)I)-C+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
276	G-((N-Me)I)-C+SRSLPPIC+IPd-OH	Método B
277	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+(alo-I)-PD-NH_2	Método A
278	AIC+SR-(alo-T)-LPPIC+IPD-NH_2	Método A

279	AIC+SRS-(3-(Trimetilsilil)-L-alanina)-P-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
280	Ac-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método D
281	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B, C
282	((N-Me)G)-IC+SRSLPP-(Chg)-C+IPD-NH_2	Método A
283	(2-(Morfolina)acetilo)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
284	(Ciclobutilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
285	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
286	GIC+SRSLPPIC+I-(Aib)-D-OH	Método B
287	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+I-((trans-4-Fluoro)P)-D-OH	Método B
288	((N-Me)G)-IC+TRSLPPIC+IPD-OH	Método B
289	((N-Me)G)-IC+SRSLPP-IC+I-((2-Me)P)-D-OH	Método B
290	Ac-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
291	FIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método C
292	AIC+SRSLP-(Oic)-IC+I-OH	Método E
293	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2	Método A, D
294	(Benzoico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
295	(Ácido fenilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
296	(Ácido tetrahidro-2H-pirano-3-ilacético)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
297	((N-Me)A)-IC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
298	((N-Ph)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
299	Ácido (Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+(2-[(1S,2S)-1-(Amino)-2-metilbutil]-1,3-oxazol-4-	Método A

	carboxílico)-D-NH_2	
300	(2-Hidroxiacetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
301	(Ciclobutanecarboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
302	AIC+SRSLPP-((3-Cloro-Ph)G)-C+IPD-NH_2	Método A
303	IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPP-NH_2	Método D
304	(Ácido tetrahidro-2H-pirano-3-ilacético)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
305	(Ácido tetrahidropiranil-4-acético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH2	Método A
306	(beta-A)-IC+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
307	(2-(N-Metil-N-ciclopropilamino)acetil)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método K
308	(Ciclobutanecarboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
309	(Isovalérico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
310	((N-Me)G)-I-(Pen)+SRS-((tBu)A)-PPI-C+IP-NH_2	Método D
311	((N-Ph)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
312	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IPd-OH	Método B
313	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+I-(Abu)-D-OH	Método B
314	AIC+SRS-(AAD)-PP-I-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
315	(Ciclopropanocarboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
316	IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
317	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+ID-NH_2	Método A
318	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IPD-OH (Sal HCl)	Método B, F
319	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A

320	(PEG1(10 átomos))-AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
321	((N-Me)G)-IC+SRS-(Cnba)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
322	((tBu)A)-GIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método D
323	GIC+SRSLP-(Oic)-IC+IPD-OH	Método B
324	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-((1R,3S,5R)-2- azabicíclo[3.1.0]hexano-3-carboxílico)-IC+IPD-OH	Método B
325	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+(Phg)-PD-OH	Método B
326	Ácido AIC+SRSLP-(3,3-dimetil-1,3-azasilolidina-5-carboxílico)-IC+IPD-NH2	Método A
327	(Ácido 3-metoxipropiónico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
328	((1S,2S,4S)-Ácido biciclico[2.2.1]hept-5-en-2-ilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH2 (subproducto de hidroxilación desconocido)	Método D
329	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+I-((N-Me)G)-D-OH	Método B
330	((3-Bromo)F)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
331	A-(alo-I)C+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
332	(Ahx)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
333	(ácido ter-butílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
334	(Ácido Ciclopentano Carboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
335	((tBu)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-OH	Método D
336	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método D
337	Ácido AIC+SRS-((2S)-2-Amino-4,4,4-trifluorobutanoico)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
338	Ácido ((2S,3S)-2-[(3R)-3-amino-2-oxopirrolidina-1-yl]-3-metilpentanoico)-C+SRSLPPIC+IAD-OH	Método B

339	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IPE-OH	Método B
340	((N-Me)G)-((N-Me)I)-C+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
341	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-NH_2	Método D
342	(Ácido tetrahidropiranil-4-acético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-NH_2	Método D
343	(Ciclopentilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
344	Ácido AIC+SRS-(2-Amino-7-(tert-butoxi)-7-oxoheptanoico)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
345	IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+I-NH_2	Método D
346	AIC+SRSLPP-(alo-I)-C+IPD-NH_2	Método A
347	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B, D
348	GIC+SRSLPPIC+I-(Hyp)-D-OH	Método B
349	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-IC+IPD-OH	Método B
350	((N,N-diMe)G)-IC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
351	(Ciclobutilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
352	(D-(+)Biotin)-(Ahx)-AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método D
353	(Ciclopropanocarboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
354	((N-Me)G)-IC+SRSL-((trans-4-Fluoro)P)-PIC+IPD-OH	Método B
355	AIC+SRSLP-((3S-OH)P)-IC+IPD-NH_2	Método A
356	((S)-3-Ácido metilpentanoico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
357	GIC+SRSL-(Morfolina-3-carboxílico)-PIC+IPD-OH	Método B
358	(Isovalérico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método D
359	(ácido tert-butilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-	Método D

	(Pen)+IP-NH_2	
360	(4-(3,5-Dimetil-1,2-oxazol-4-yl)-L-fenilalanina)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método C
361	((N-Me)G)-PIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
362	(Ácido 4-(Aminometil)benzoico)-IC+SRSLPPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
363	(D-(+)Biotina)-(Ahx)-AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
364	(Tranexámico)-IC+SRSLPPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
365	(4-Metilvalérico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH2	Método D
366	(Ácido 5-clorotiofeno-2-carboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
367	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+I-(Oic)-D-OH	Método B
368	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-OH	Método D
369	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-OH	Método D
370	fIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método C
371	PPIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+I-NH_2	Método D
372	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPE-NH_2	Método D
373	(Aib)-IC+SRSLPPIC+IPD-NH_2	Método A
374	AIC+SRSLPPIC+(2-metil-D-alloisoleucina)-PD-NH2	Método A
375	(4-Metilvalérico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método D
376	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2 (Citrato)	Método FA
377	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-NH_2	Método D
378	PPIC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
379	((N-Me)I)-C+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
380	GIC+SRSL-(Hyp)-PIC+IPD-OH	Método B
381	((N-Me)G)-(Orn)-(Orn)-(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-	Método C

	(Pen)+IP-NH_2	
382	(Ciclobutilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
383	(Ahx)-IC+SRSLP-(Oic)-IC+I-OH	Método E
384	GIC+SRS-((Trifluoro)l/L)-PPIC+IPD-OH	Método B
385	(Hidrocinámica)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
386	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IpD-OH	Método B
387	(Láctico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-NH_2	Método A
388	IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPQ-OH	Método D
389	AIC+SRSLPP-(Ciclobutilglicina)-C+IPD-NH_2	Método A
390	((N-Me)G)-IC+SRSLP-((trans-4-Fluoro)P)-IC+IPD-OH	Método B
391	(Ciclohexilcarboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
392	(2-Hidroxiisobutírico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-NH_2	Método A
393	Ácido ((2S,3S)-2-[(3S)-2-oxopiperazina-1-il]-3-metilpentanoico)-C+SRSLPPIC+IAD-OH	Método B
394	((N-Me)G)-IC+SRSLPPIC+IPN-OH	Método B
395	(Ácido adípico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
396	(ácido ter-butílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+I-NH_2	Método D
397	Ácido ((2S,3S)-2-[2-Oxopiperazina-1-yl]-3-metilpentanoico)-C+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
398	(Piválico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
399	(Orn)-AIC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
400	(Ácido fumárico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
401	GIC+SRSL-(Pip)-PIC+ID-OH	Método B

402	((N-Me)G)-I-(Pen)+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
403	AIC+S-((Me)R)-S-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
404	(Ácido isobutírico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-NH_2	Método A
405	((N-Me)G)-(Orn)-(Orn)-(Orn)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método C
406	(Hidrocinámica)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método D
407	(Ácido subérico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método D
408	(Ácido Ciclopentano Carboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+I-NH_2	Método A
409	(PEG1(10 átomos))-GIC+SRSLPPIC+IPD-OH	Método B
410	GIC+SRSLP-(Hyp)-IC+IPD-OH	Método B
411	AIC+SRS-((tBu)G)-PPI-C+IPD-NH_2	Método A
412	((N-Me)G)-IC+KRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método D
413	((N-Me)G)-IC+SR-(Dap)-LPPIC+IPD-OH	Método B
414	GIC+SRSLP-((cis-Fluoro)P)-IC+IPD-OH	Método B
415	(Ciclohexilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH_2	Método A
416	GIC+SRS-((4-Bromo)F)-PPIC+IPD-OH	Método B
417	Ácido AIC+SRSLPPIC+((2S,3S)-2-((Amino)metil)-3-metilpentanoico)-PD-NH_2	Método A
418	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPN-OH	Método C
419	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-((5-Azaspiro[2.4]heptano-1-ácido carboxílico)-OH	Método B
420	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH_2 (Acetato)	Método FA
421	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG2(13 átomos))-NH_2	Método A
422	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-	Método A

	(PEG4-CH2CO2H (15 átomos))-NH_2	
423	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG3(16 átomos))-NH_2	Método A
424	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG5-CH2CO2H (18 átomos))-NH_2	Método A
425	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG5(22 átomos))-NH_2	Método A
426	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG7(25 átomos))-NH_2	Método A
427	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG8(28 átomos))-NH_2	Método A
428	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG9(31 átomos))-NH_2	Método A
429	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(TTDS)-NH_2	Método A
430	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(Orn)-(Orn)-(Orn)-NH_2	Método A
431	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH (sal de sodio)	Método B, L
432	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH (sal colina)	Método B, L
433	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-((N-Me)G)-((N-Me)G)-((N-Me)G)-NH_2	Método A
434	(ODD)-AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B
435	(Tranexámico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG4(19 átomos))-NH_2	Método A
436	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPP-((2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico)-NH_2	Método A
437	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((2S)-3-(Triazol-1-il)-2-(amino)propanoico)-NH_2	Método A
438	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((5-	Método B

	Azaspiro[2.4]heptano-1-carboxílico)-OH	
439	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-P-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
440	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico)-PPI-(Pen)+IP-NH_2	Método A
441	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((2S)-3-(2,3-difluorofenil)-2-aminopropanoico)-P-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
442	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-P-((1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-carboxílico)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
443	Ácido ((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-P-((3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1))-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
444	((3-Me)H)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
445	Ácido ((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-P-((3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 2))-I-(Pen)+IP-NH_2	Método A
446	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(Ida)-OH	Método C
447	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-((1-Bn)H)-OH	Método C
448	((N-Me)G)-IC+RRS-((tBu)A)-PP-(Nva)-(Pen)+IP-NH_2	Método D
449	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((1R,3S)-3-(Amino)ciclopentanecarboxílico)-OH	Método B
450	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((R)-4-amino-6-metilheptanoico)-OH	Método B
451	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((S)-(1-Piperidin-3-il)-acético)-OH	Método B
452	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((1S,3R)-3-(Amino)ciclopentanecarboxílico)-OH	Método B

453	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((S)-3-(1-Pirrolidina-2-il)-propiónico)-OH	Método B
454	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPN-OH	Método B, C
455	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(beta-homo-P)-OH	Método B
456	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((S)-Pirrolidina-3-carboxílico)-OH	Método B
457	Ácido ((2,4-dioxoimidazolidina-1-yl)acético)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B
458	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(*Dap)-OH	Método C
459	(Ácido (R)-Piperidina-3-carboxílico)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-OH	Método C
460	(Ácido (S)-Piperidina-3-carboxílico)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-OH	Método C
461	(Ácido 8-aminocubano-1-carboxílico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método B
462	((N-Me)A)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((N-Bencil)D)-NH_2	Método I
463	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPDK-OH	Método C
464	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPGD-OH	Método C
465	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(Ahx)-OH	Método C
466	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPDD-OH	Método C
467	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(*Dap)-OH	Método J
468	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG2(13 átomos))-OH	Método C
469	(Orn)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
470	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG4-CH2CO2H (15 átomos))-OH	Método C
471	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG4-	Método C

	CH2CO2H (15 átomos))-OH	
472	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(PEG5(22 átomos))-OH	Método C
473	AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH (Acetato)	Método FA
474	Ácido ((N-Me))-GIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+I-((S)-4-Piperazina-2-carboxílico)-OH	Método B
475	(Ácido piperidino-4-ilacético)-IC+SRS-((tBu)A)-PPIC+IPD-OH	Método C
476	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(4-aminometilfenilacético)-OH	Método C
477	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(3-aminometilfenilacético)-OH	Método C
478	aIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)-+IP-(Ácido 3-aminometilfenilacético)-OH	Método C
479	(Orn)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-((N-Me)C)+IPD-OH	Método C
480	(beta-P)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método C
481	(beta-p)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método C
482	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-((3-Carboxi)F)-OH	Método C
483	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((3-Carboxi)F)-OH	Método C
484	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG2(13 átomos))-OH	Método C
485	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG3(16 átomos))-OH	Método C
486	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(Orn)-D-OH	Método C
487	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPR-OH	Método C
488	(Ácido (R)-Piperidina-3-carboxílico)-IC+SRSLP-(Oic)-	Método C

	I-(Pen)+IPD-OH	
489	(Ácido (S)-Piperidina-3-carboxílico)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
490	(Ácido 4-carboxibenzoico)-GIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
491	(Ácido 3-carboxibenzoico)-GIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
492	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPT-OH	Método C
493	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPY-OH	Método C
494	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPDA-OH	Método C
495	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPGd-OH	Método C
496	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG5-CH2CO2H(18 átomos))-OH	Método C
497	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-((N-Me)G)-((N-Me)G)-((N-Me)G)-OH	Método C
498	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG1(10 átomos))-OH	Método C
499	AIC+S-(Arg(13C6,15N4))-SLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH (Sal HCl)	Método B, F
500	((N-Me)G)IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(PEG1(10 átomos))-OH	Método C
501	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-(PEG3(16 átomos))-OH	Método C
502	(Pirrolidineacetilo)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método C
503	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG9(31 átomos))-OH	Método C
504	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-(PEG9(31 átomos))-OH	Método C

505	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG8(28 átomos))-OH	Método C
506	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG4-CH2CO2H(15 átomos))-OH	Método C
507	Ácido AIC+SRSL-((1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-carboxílico)-PI-(Pen)+IPD-OH	Método B
508	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-(2-amino-5,5,5-trifluoro-4-metil-pentanoico)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método B
509	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((2S)-2-amino-5-metilhexanoico)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método B
510	(Ácido (2S)-2-(morfolina-4-yl)propanoico)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B
511	AIC+SRSLPP-((3-Cloro-Ph)G)-C+IPD-OH	Método C
512	(ODD)-AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-(Orn)-OH	Método C
513	(ODD)-(Orn)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
514	((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG2(13 átomos))-OH	Método C
515	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(AAD)-OH	Método C
516	AIC+SRSLP-((4-CF3)P)-IC+IPD-OH	Método C
517	AIC+SRS-((tBu)A)-P-((4-CF3)P)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
518	((N-Me)G)-FC+TRK-((tBu)A)-(Pen)+YPD-OH	Método C
519	((N-Me)G)-IC+SRS-((2,5-Difluoro)F)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método C
520	((N-Me)G)-IC+SRS-((2,5-Difluoro)F)-PPI-(Pen)+IPe-OH	Método C
521	((N-Me)G)-IC+SRS-((2,5-Difluoro)F)-PPI-(Pen)+IPDd-OH	Método C
522	Ácido aIC+SRS-((tBu)A)-P-((6S)-5-	Método C

	Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico)-I-(Pen)+IPD-OH	
523	Ácido aIC+SRS-((tBu)A)-P-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico)-I-(Pen)+IPe-OH	Método C
524	AIC+SRS-((tBu)A)-P-((4-CF3)P)-IC+IPD-OH	Método C
525	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((2S)-2-amino-3-(1-metilciclopropil)propanoico)-P-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH	Método B
526	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-P-((1S,2S,5R)-3-azabiciclo[3.1.0]hexano-2-carboxílico)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
527	((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(Lactamo de Freidinger)-OH	Método C
528	pIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-(Ida)-OH (sal HCl)	Método C
529	Ácido (Orn)-IC+SRS-((2R)-2-amino-3-(trifluorometilsulfanil)-propanoico)-PPI-(Pen)+IPD-OH	Método C
530	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((R)-Pirrolidina-3-acético)-OH	Método C
531	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-P-((3S)-2-azaspiro[4.4]-nonano-3-carboxílico)-I-(Pen)+IPD-OH	Método C
532	Ácido ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-((R)-Pirrolidina-3-carboxílico)-OH	Método C

Tabla 15: Datos analíticos para los péptidos de referencia

N.° de Referencia	**Tiempo de retención (min)**	**Método LC-MS 1**	**Pureza (%)**	**Masa exacta calculada (g/mol)**	**Masa exacta encontrada (g/mol)**	**Ionización**	**LC-MS Pureza (%) Método**	**LC-MS Pureza (%) Método**

							W2	W3
1	8,68	Método 1	>99	1467,7214	1467,7344	[M+2H]2+		
2	8,75	Método 1	>99	1467,7200	1467,7400	[M+2H]2+		
3	4,37	Método 2	94,79	1466,7374	1466,7408	[M+2H]2+		
A	4,66	Método 6	>99	1481,7371	1481,7600	[M+2H]2+		
B	8,59	Método 1	>99	1480,7500	1480,7600	[M+2H]2+		
C	8,88	Método 1	95,00	1480,7530	1480,7632	[M+2H]2+		

Tabla 16: Datos analíticos de los péptidos preparados según la invención

Ejemplo, N.º	**Tiempo de retención (min)**	**Método LC-MS 1**	**Pureza (%)**	**Masa exacta calculada (g/mol)**	**Masa exacta encontrada (g/mol)**	**Ionización**	**LC-MS Pureza (%) Método W2**	**LC-MS Pureza (%) Método W3**

4	7,98	Método 4	93,11	1721,9208	1721,9344	[M+2H]2+		
5	8,61	Método 4	96,38	1563,8153	1563,8286	[M+2H]2+		
6	9,69	Método 1	>99	1324,7359	1325,7380	[M+H]+	98,49	98,16
7	7,92	Método 4	96,55	1650,9201	1650,9384	[M+2H]2+		
8	6,90	Método 4	100	1433,7887	1433,807	[M+2H]2+		
9	7,78	Método 4	97,50	1548,8156	1548,8322	[M+2H]2+	93,70	95,10
10	9,22	Método 1	82,28	1536,8156	1536,8320	[M+2H]2+	91,50	90,10
11	9,26	Método 1	93,15	1522,8000	1522,8258	[M+2H]2+		
12	9,41	Método 1	>99	1523,7840	1523,8060	[M+2H]2+		
13	8,52	Método	>99	1563,8153	1563,8346	[M+2H]2+	98,68	97,99

		4						
14	9,97	Método 1	99,07	1577,8310	1577,8558	[M+2H]2+		
15	9,33	Método 1	92,48	1562,8313	1562,8476	[M+2H]2+		
16	7,67	Método 4	95,58	1654,9915	1654,9296	[M+2H]2+		
17	9,21	Método 1	95,00	1534,8000	1534,8246	[M+2H]2+		
18	8,8	Método 1	>99	1566,8262	1566,8502	[M+2H]2+		
19	8,94	Método 1	90,00	1593,8483	1593,8616	[M+2H]2+		
20	9,71	Método 1	95,90	1478,7374	1478,7458	[M+2H]2+		
21	9,3	Método 1	95,59	1537,7997	1536,8342	[M+2H]2+	97,00	95,80
22	9,14	Método 1	94,83	1521,8160	1521,8338	[M+2H]2+	96,30	95,60
23	8,09	Mé-	>99	1475,8	1475,8488	[M+2H	88,4	89,2

		todo 4		356		]2+	0	0
24	9,21	Mé-todo 1	92,48	1536,8156	1536,8304	[M+2H]2+	97,40	93,20
25	9,48	Mé-todo 1	98,21	1296,7046	1297,7152	[M+H]+		
26	9,72	Mé-todo 1	>99	1562,8313	1562,8562	[M+2H]2+		
27	4,00	Mé-todo 3	>99	1562,8313	1562,8518	[M+2H]2+		
28	9,87	Mé-todo 1	>99	1338,7516	1338,7530	[M+H]+	98,77	97,66
29	8,56	Mé-todo 4	>99	1563,8153	1563,82	[M+2H]2+		
30	4,71	Mé-todo 2	>99	1508,7843	1508,7874	[M+2H]2+		
31	9,64	Mé-todo 1	>99	1549,7997	1549,8095	[M+H]+		
32	9,2	Mé-todo 1	86,00	1548,8156	1548,8232	[M+2H]2+	92,70	90,10

33	7,28	Método 4	100	1459,8043	1459,8218	[M+2H]2+		
34	8,08	Método 4	100	1786,9937	1788,024	[M+2H]2+		
35	8,87	Método 1	95,00	1565,8422	1565,8538	[M+2H]2+		
36	9,29	Método 1	95,00	1535,7840	1535,8108	[M+2H]2+		
37	9,14	Método 1	>99	1282,6890	1282,7012	[M+2H]2+		
38	8,9	Método 1	>99	1381,7686	1381,7800	[M+H]+		
39	7,70	Método 4	97,08	1566,8626	1566,8794	[M+2H]2+		
40	9,01	Método 1	83,81	1608,8480	1608,8640	[M+2H]2+	96,30	92,40
41	9,64	Método 1	95,00	1534,8000	1534,9346	[M+2H]2+		
42	7,23	Método	>99	1546,8225	1546,8388	[M+2H]2+	96,40	96,10

		4						
43	7,9	Método 4	>99	1378,7829	1378,8	[M+2H]2+	96,27	97,01
44	8,10	Método 4	96,58	1875,0461	1876,06	[lM+2H]2+		
45	9,49	Método 1	88,00	1548,8156	1548,8380	[M+2H]2+		
46	9,59	Método 1	91,55	1548,8156	1548,8286	[M+2H]2+		
47	9,24	Método 1	80,00	1550,8313	1550,8442	[M+2H]2+	96,50	93,60
48	9,57	Método 1	>99	1508,7843	1508,7916	[M+2H]2+		
49	8,67	Método 1	>99	1565,8422	1565,8560	[M+2H]2+		
50	9,08	Método 1	>99	1605,8735	1605,8984	[M+2H]2+		
51	9,16	Método 1	71,28	1522,8000	1522,8128	[M+2H]2+	95,10	94,50
52	9,28	Mé-	78/2	1534,8	1534,8128	[M+2H	95,7	92,9

		todo 1	1	000		]2+	6	2
53	9,41	Mé-todo 1	>99	1326,7152	1326,7209	[M+H]+	98,66	97,12
54	9,45	Mé-todo 1	91,46	1550,8313	1550,8464	[M+2H]2+	94,20	94,70
55	7,83	Mé-todo 4	94,68	1684,9256	1685,9558	[M+2H]2+		
56	4,60	Mé-todo 4	90,76	1865,0379	1866,0744	[M+4H]4+		
57	7,15	Mé-todo 4	98,44	1620,8844	1620,8984	[M+2H]2+		
58	8,21	Mé-todo 4	100	1598,8313	1598,8554	[M+2H]2+		
59	9,07	Mé-todo 1	>99	1523,7476	1523,7686	[M+2H]2+		
60	9,63	Mé-todo 1	94,50	1564,8469	1564,8598	[M+2H]2+	93,30	92,20
61	7,50	Mé-todo 4	>99	1350,7516	1350,7642	[M+2H]2+	96,00	97,10

62	8,23	Método 4	100	1765,947	1765,9622	[M+2H]2+		
63	8,59	Método 4	100	1839,9838	1841,0094	[M+2H]2+		
64	7,12	Método 4	100	1405,7574	1405,7800	[M+2H]2+		
65	9,75	Método 1	>99	1338,7516	1338,7650	[M+H]+		
66	9,11	Método 1	95,21	1508,7843	1508,8020	[M+2H]2+		
67	7,72	Método 4	>99	1447,8043	1447,8184	[M+2H]2+		
68	9,62	Método 1	84,01	1564,8469	1564,8638	[M+2H]2+	95,30	95,80
69	9,5	Método 1	85,69	1550,8313	1550,8490	[M+2H]2+	93,00	93,90
70	7,58	Método 4	>99	1609,8832	1609,8478	[M+2H]2+		
71	5,06	Método	99,17	1447,8043	1447,7710	[M+2H]2+	98,10	96,30

		4						
72	7,34	Mé-todo 4	97,29	1610,8888	1610,9054	[M+2H]2+		
73	7,5	Mé-todo 4	94,66	1640,8994	1640,913	[M+2H]2+		
74	7,94	Mé-todo 4	95,69	1831,0199	1831,04	[M+2H]2+		
75	8,19	Mé-todo 4	>99	1562,8313	1562,842	[M+2H]2+		
76	7,78/7,80	Mé-todo 4	100/100	1606,8939	1606,9108/1606,9078	[M+2H]2+		
77	8,96	Mé-todo 1	>99	1551,8265	1551,8418	[M+2H]2+		
78	8,92	Mé-todo 1	>99	1551,8265	1551,8382	[M+2H]2+		
79	8,79	Mé-todo 1	>99	1353,7625	1353,7738	[M+2H]2+		
80	9,41	Mé-todo 1	98,76	1564,8469	1564,8612	[M+2H]2+		
81	9,9	Mé-	87,3	1637,8	1637,8578	[M+2H	94,3	94,5

		todo 1	4	422		]2+	0	0
82	9,25	Mé-todo 1	87,40	1534,8000	1534,8166	[M+2H]2+	94,40	93,10
83	8,22	Mé-todo 4	100	1724,9569	1724,9722	[M+2H]2+		
84	8,37	Mé-todo 4	100	1853,9995	1854,0168	[M+2H]2+		
85	7,64	Mé-todo 4	100	1709,9572	1709,98	[M+2H]2+		
86	9,56	Mé-todo 1	>99	1509,7684	1509,7790	[M+2H]2+		
87	9,71	Mé-todo 1	88,65	1548,8156	1548,8324	[M+2H]2+		
88	8,56	Mé-todo 4	>99	1563,8153	1563,8338	[M+2H]2+	99,49	98,88
89	7,71	Mé-todo 4	94,93	1742,9674	1742,9808	[M+2H]2+		
90	7,25	Mé-todo 4	100	1534,8	1534,8136	[M+2H]2+		

91	8,93	Método 1	92,60	1339,7468	1339,7460	[M+2H]2+		
92	9,59	Método 1	98,22	1322,7203	1322,7270	[M+2H]2+		
93	8,92	Método 1	79,37	1599,8265	1599,8390	[M+2H]2+	97,20	94,40
94	9,69	Método 1	91,51	1604,7877	1604,7942	[M+2H]2+	92,80	92,70
95	9,71	Método 1	85,46	1564,8469	1564,8626	[M+2H]2+	93,20	91,60
96	7,53	Método 4	>99	1351,7356	1351,7356	[M+2H]2+	95,30	96,20
97	8,19	Método 4	96,25	1738,9725	1739,98	[M+2H]2+		
98	9,19	Método 1	97,50	1522,8000	1522,8170	[M+2H]2+		
99	9,75	Método 1	>99	1336,7359	1337,7410	[M+H]+		
100	6,83	Método	>99	1324,7359	1324,7552	[M+2H]2+	99,60	99,50

		4						
101	8,25	Mé-todo 4	99,42	1809,9733	1810,9926	[M+2H]2+		
102	9,59	Mé-todo 1	92,37	1560,7404	1560,7566	[M+2H]2+		
103	9,31	Mé-todo 1	>99	1312,6995	1312,7116	[M+2H]2+		
104	9,44	Mé-todo 1	>99	1620,6792	1622,6874	[M+2H]2+		
105	7,82	Mé-todo 4	96,96	1576,8469	1576,8664	[M+2H]2+	96,10	97,20
106	8,12	Mé-todo 4	96,29	1576,8469	1576,8624	[M+2H]2+	91,60	93,40
107	8,74	Mé-todo 4	93,03	1942,0519	1943,0778	[M+2H]2+		
108	9,87	Mé-todo 1	98,00	1576,8469	1576,8632	[M+2H]2+		
109	8,05	Mé-todo 4	>99	1447,8043	1447,8228	[M+2H]2+	99,50	99,30
110	8,57	Mé-	>99	1462,8	1462,8150	[M+2H	97,3	96,7

		todo 4		040		]2+	0	0
111	8,5	Mé-todo 4	>99	1448,7884	1448,8082	[M+2H]2+	99,00	99,20
112	8,34	Mé-todo 4	>99	1577,8310	1577,8388	[M+2H]2+	97,20	95,20
113	8,22	Mé-todo 4	91,92	1680,9307	1680,9486	[M+2H]2+		
114	8,76	Mé-todo 1	97,00	1550,7949	1550,8186	[M+2H]2+		
115	9,43	Mé-todo 1	85,65	1591,7851	1591,8010	[M+2H]2+	95,50	93,70
116	9,13	Mé-todo 1	85,75	1536,8156	1536,8316	[M+2H]2+	95,90	92,90
117	8,12	Mé-todo 4	>99	1351,7356	1351,7492	[M+2H]2+	99,10	98,90
118	5,19	Mé-todo 4	>99	1576,8469	1576,8658	[M+2H]2+	98,00	98,00
119	8,32	Mé-todo 4	100	1865,0155	1866,0304	[M+2H]2+		

120	9,9	Método 1	97,00	1576,8469	1576,8738	[M+2H]2+		
121	8,95	Método 1	>99	1398,6999	1398,7090	[M+H]+		
122	7,77	Método 4	>99	1576,8469	1576,8580	[M+2H]2+	96,70	96,70
123	10	Método 1	>99	1433,7887	1433,7986	[M+2H]2+		
124	8,84	Método 1	88,44	1588,8218	1588,8398	[M+2H]2+	96,90	94,40
125	5,83	Método 4	>99	1450,8152	1450,8322	[M+2H]2+	99,60	98,60
126	7,35	Método 4	>99	1421,7887	1421,8074	[M+2H]2+	99,30	98,24
127	8,04	Método 4	94,16	1694,9463	1694,9594	[M+2H]2+		
128	9,87	Método 1	>99	1576,7717	1576,7832	[M+2H]2+		
129	9,79	Método	>99	1336,7359	1336,7440	[M+H]+		

		1						
130	7,76	Método 4	>99	1576,8469	1576,8588	[M+2H]2+		
131	7,98	Método 4	>99	1590,8626	1590,8774	[M+2H]2+	98,50	98,20
132	7,63	Método 4	98,57	1575,8620	1575,8764	[M+2H]2+	92,10	98,00
133	8,41	Método 4	100	1795,9576	1796,9876	[M+2H]2+		
134	8,24	Método 4	>99	1365,7512	1365,7660	[M+2H]2+	99,60	98,90
135	8,00	Método 4	>99	1461,8200	1461,8346	[M+2H]2+	95,70	95,31
136	8,36	Método 4	100	1749,9885	1751,0162	[M+2H]2+		
137	7,68	Método 4	>99	1564,8469	1564,8598	[M+2H]2+		
138	8,39	Método 4	>99	1577,8310	1577,9858	[M+2H]2+	98,90	98,80
139	7,91	Mé-	>99	1589,8	1589,8942	[M+2H	96,5	98,4

		todo 4		786		]2+	0	0
140	7,91	Mé-todo 4	94,59	1782,9987	1783,02	[M+2H]2+		
141	8,78	Mé-todo 4	100	1986,0781	1987,1064	[M+2H]2+		
142	2,95	Mé-todo 14	90,10	1565,7997	1565,8520	[M+2H]2+		
143	7,42	Mé-todo 4	94,92	1552,8106	1552,8338	[M+2H]2+	95,10	93,50
144	6,45	Mé-todo 4	>99	1451,7993	1451,8158	[M+2H]2+	96,00	96,00
145	7,92	Mé-todo 4	93,08	1698,9412	1699,9666	[M+2H]2+		
146	8,54	Mé-todo 4	98,92	1898,0257	1899,0438	[M+2H]2+		
147	9,03	Mé-todo 1	82,90	1494,7687	1494,7820	[M+2H]2+	96,98	95,66
148	7,95	Mé-todo 4	>99	1553,7946	1553,8008	[M+2H]2+	95,10	93,50

149	7,15	Método 4	>99	1421,7887	1421,8082	[M+2H]2+	98,50	98,90
150	8,30	Método 4	96,95	1827,025	1827,04	[M+2H]2+		
151	8,75	Método 4	90,85	1915,0774	1916,1114	[M+2H]2+		
152	7,63	Método 4	>99	1364,7672	1364,7830	[M+2H]2+	99,30	98,10
153	9,6	Método 1	>99	1535,7840	1535,7904	[M+2H]2+		
154	8,94	Método 1	>99	1362,7264	1362,7502	[M+2H]2+		
155	10,26	Método 1	>99	1563,8153	1563,8318	[M+2H]2+		
156	7,06	Método 4	>99	1407,7730	1407,7902	[M+2H]2+	99,30	98,40
157	7,85	Método 4	>99	1504,8258	1504,8416	[M+2H]2+	98,20	99,30
158	9,49	Método	96,07	1562,7561	1562,7722	[M+2H]2+		

		1						
159	9,93	Mé-todo 1	>99	1336,7359	1336,7485	[M+H]+		
160	7,63	Mé-todo 4	>99	1350,7516	1350,7670	[M+2H]2+	95,20	96,10
161	8,27	Mé-todo 4	>99	1591,8466	1591,8658	[M+2H]2+	98,20	98,50
162	8,52	Mé-todo 4	>99	1577,8310	1577,8426	[M+2H]2+	96,50	97,00
163	8,98	Mé-todo 1	>99	1436,7996	1436,8210	[M+2H]2+		
164	7,99	Mé-todo 4	98,33	1474,804	1476,84	[M+2H]2+		
165	7,93	Mé-todo 4	96,48	1562,8313	1562,8510	[M+2H]2+	96,70	96,70
166	7,37	Mé-todo 4	79,60	1550,8313	1550,8446	[M+2H]2+	94,20	92,20
167	8,5	Mé-todo 4	>99	1448,7884	1448,8034	[M+2H]2+	96,60	98,20
168	8,45	Mé-	100	1871,0	1871,06	[M+2H		

		todo 4		512		]2+		
169	9,22	Mé-todo 1	>99	1520,7843	1520,7968	[M+2H]2+		
170	8,98	Mé-todo 1	91,66	1508,7843	1508,7936	[M+2H]2+		
171	7,51	Mé-todo 4	>99	1546,8728	1546,8896	[M+2H]2+	97,10	96,20
172	5,14	Mé-todo 4	>99	1447,8043	1447,8228	[M+2H]2+	97,00	97,90
173	7,77	Mé-todo 4	>99	1576,8469	1576,8678	[M+2H]2+	98,00	97,30
174	7,54	Mé-todo 4	95,17	1654,9150	1654,9334	[M+2H]2+	98,00	98,00
175	9,4	Mé-todo 1	93,13	1522,8000	1522,8092	[M+2H]2+		
176	10,05	Mé-todo 1	>99	1548,8156	1548,8388	[M+2H]2+		
177	10,55	Mé-todo 1	>99	1351,7356	1351,7490	[M+H]+		

178	9,44	Método 1	87,65	1598,8313	1598,8368	[M+2H]2+	92,00	95,40
179	8,11	Método 4	>99	1590,8626	1590,8774	[M+2H]2+	97,70	98,00
180	10	Método 1	>99	1549,7997	1549,8112	[M+2H]2+		
181	9,86	Método 1	99,00	1372,7359	1373,7382	[M+H]+		
182	9,57	Método 1	>99	1388,7308	1388,7400	[M+H]+		
183	8,95	Método 1	>99	1550,7949	1551,8000	[M+H]+		
184	9,89	Método 1	>99	1393,7462	1393,7700	[M+2H]2+		
185	9,83	Método 1	>99	1548,8156	1548,8244	[M+2H]2+		
186	8,76	Método 1	>99	1325,7312	1325,7359	[M+H]+		
187	9,2	Método	85,96	1584,8156	1584,8334	[M+2H]2+	97,10	95,00

		1						
188	7,97	Método 4	>99	1351,7356	1351,7524	[M+2H]2+	99,30	99,80
189	7,97	Método 4	>99	1576,8469	1576,8658	[M+2H]2+	97,60	98,50
190	8,42	Método 4	>99	1448,7884	1448,8150	[M+2H]2+	98,00	98,60
191	7,78	Método 4	>99	1576,8469	1576,8650	[M+2H]2+	98,40	96,60
192	8,07	Método 4	88,36	1576,8469	1576,8638	[M+2H]2+	99,20	98,20
193	8,58	Método 4	95,98	1638,8626	1638,88	[M+2H]2+		
194	4,08	Método 3	100	1474,804	1474,8212	[M+2H]2+		
195	6,52	Método 4	>99	1325,7312	1325,7488	[M+2H]2+	99,10	95,10
196	8,11	Método 4	>99	1577,8310	1577,8456	[M+2H]2+	95,60	95,20
197	7,06	Mé-	100	1405,7	1405,78	[M+2H		

		todo 4		574		]2+		
198	10,17	Mé-todo 1	>99	1350,7516	1350,7656	[M+H]+		
199	9,16	Mé-todo 1	81,04	1508,7843	1508,7950	[M+2H]2+	94,25	92,02
200	7,55	Mé-todo 4	>99	1575,8629	1575,8758	[M+2H]2+	91,60	95,90
201	8,14	Mé-todo 4	>99	1577,8310	1577,8466	[M+2H]2+	98,80	99,10
202	7,62	Mé-todo 4	>99	1575,8629	1575,9792	[M+2H]2+	98,60	99,10
203	7,95	Mé-todo 4	>99	1576,8469	1576,8588	[M+2H]2+	98,80	97,50
204	7,57	Mé-todo 4	>99	1469,7887	1469,8062	[M+2H]2+	95,90	96,20
205	8,81	Mé-todo 1	95,10	1480,7530	1480,7638	[M+2H]2+		
206	7,55	Mé-todo 4	84,01	1534,8000	1534,8172	[M+2H]2+	96,70	95,80

207	7,18	Método 4	97,74	1566,8626	1566,8881	[M+2H]2+	98,30	98,10
208	7,16	Método 4	>99	1336,7359	1336,7542	[M+2H]2+	98,50	97,50
209	9,17	Método 1	94,43	1494,7687	1494,7826	[M+2H]2+		
210	8,78	Método 1	>99	1513,7269	1513,7372	[M+2H]2+		
211	9,79	Método 1	86,55	1598,8313	1598,8430	[M+2H]2+	96,39	97,13
212	10,07	Método 1	>99	1548,8156	1548,8266	[M+2H]2+		
213	9,14	Método 1	84,10	1579,8215	1579,8394	[M+2H]2+	97,50	94,80
214	6,82	Método 4	94,98	1451,6699	1451,6876	[M+2H]2+		
215	8,17	Método 4	>99	1577,8310	1577,8580	[M+2H]2+	98,70	98,20
216	9,02	Método	95,47	1508,7843	1508,8030	[M+2H]2+		

		1						
217	8,00	Método 4	94,67	1562,8313	1562,8420	[M+2H]2+	90,20	94,10
218	7,38	Método 4	83,21	1599,8265	1599,8452	[M+2H]2+	95,50	95,40
219	7,29	Método 4	98,29	1469,7887	1469,8074	[M+2H]2+	91,60	92,60
220	8,75	Método 1	91,37	1478,7374	1478,8566	[M+2H]2+		
221	7,37	Método 4	98,49	1634,9252	1634,9396	[M+2H]2+		
222	9,36	Método 1	>99	1507,7527	1507,7598	[M+2H]2+		
223	10,02	Método 1	>99	1411,7500	1411,7640	[M+2H]2+		
224	9,49	Método 1	>99	1534,8000	1534,8034	[M+2H]2+		
225	8,92	Método 1	98,52	1550,7949	1550,8112	[M+2H]2+		
226	8,52	Mé-	>99	1455,7	1455,7904	[M+2H	98,9	98,8

		todo 4		730		]2+	0	0
227	8,32	Mé-todo 4	98,31	1563,8153	1563,8276	[M+2H]2+	93,90	92,60
228	8,86	Mé-todo 1	94,17	1480,7530	1480,7624	[M+2H]2+		
229	8,26	Mé-todo 4	97,70	1590,8626	1590,8782	[M+2H]2+		
230	4,54	Mé-todo 2	94,53	1494,7687	1494,7734	[M+2H]2+		
231	10,19	Mé-todo 1	>99	1563,8153	1563,8254	[M+2H]2+		
232	9,27	Mé-todo 1	>99	1495,7527	1495,7612	[M+2H]2+		
233	7,05	Mé-todo 4	100	1451,6699	1451,69	[M+2H]2+		
234	9,66	Mé-todo 1	>99	1548,8156	1548,8260	[M+2H]2+		
235	9,52	Mé-todo 1	92,00	1564,7342	1564,7572	[M+2H]2+		

236	8,62	Método 1	>99	1311,7155	1311,7100	[M+H]+		
237	8,30	Método 4	>99	1561,7997	1561,8138	[M+2H]2+	97,11	96,94
238	9,52	Método 1	99,00	1562,7141	1562,7204	[M+2H]2+		
239	9,37	Método 1	96,86	1570,8190	1570,8000	[M+2H]2+		
240	5,43	Método 4	98,27	1494,7121	1494,7317	[M+3H]3+		
241	9,15	Método 1	>99	1518,7687	1518,7814	[M+2H]2+		
242	7,41	Método 4	100	1475,8356	1475,8544	[M+2H]2+		
243	9,08	Método 1	>99	1522,8000	1522,8114	[M+2H]2+		
244	7,58	Método 4	>99	1350,7516	1350,7668	[M+2H]2+	96,10	96,70
245	9,28	Método	>99	1506,7687	1506,7754	[M+2H]2+		

		1						
246	9,14	Método 1	>99	1495,7527	1495,7622	[M+2H]2+		
247	9,33	Método 1	>99	1294,6890	1294,7038	[M+2H]2+		
248	8,77	Método 1	97,35	1498,7436	1498,7550	[M+2H]2+		
249	7,81	Método 1	>99	1447,8043	1447,8232	[M+2H]2+		
250	9,16	Método 1	96,08	1534,8000	1534,8168	[M+2H]2+		
251	7,55	Método 4	87,23	1475,8356	1475,849	[M+2H]2+		
252	8,3	Método 1	85,87	1509,7432	1509,7608	[M+2H]2+	96,30	96,70
253	9,04	Método 1	95,92	1508,7843	1508,7908	[M+2H]2+		
254	9,18	Método 1	95,70	1506,7687	1506,7768	[M+2H]2+		
255	7,26	Mé-	>99	1449,8	1449,8404	[M+2H	97,7	96,5

		todo 4		200		]2+	0	0
256	9,45	Mé-todo 1	94,64	1437,7472	1437,7622	[M+2H]2+		
257	5,48	Mé-todo 4	>99	1367,7781	1367,7956	[M+2H]2+	95,40	97,30
258	7,51	Mé-todo 4	>99	1337,7199	1337,7416	[M+2H]2+	98,79	99,40
259	9,36	Mé-todo 1	>99	1350,7516	1350,7566	[M+H]+		
260	8,85	Mé-todo 1	>99	1494,7687	1494,7762	[M+2H]2+		
261	8,69	Mé-todo 1	>99	1480,7530	1480,7618	[M+2H]2+		
262	8,97	Mé-todo 1	94,47	1492,7530	1492,7622	[M+2H]2+		
263	7,63	Mé-todo 4	86,77	1522,8000	1522,8100	[M+2H]2+	97,20	93,30
264	8,07	Mé-todo 1	>99	1447,8043	1447,8224	[M+2H]2+		

265	8,26	Método 4	>99	1377,7512	1377,7666	[M+2H]2+	97,60	96,50
266	7,17	Método 4	100	1691,9215	1691,9382	[M+2H]2+		
267	7,84	Método 4	100	1459,8043	1459,8176	[M+2H]2+		
268	10,3	Método 1	>99	1562,8313	1562,8400	[M+2H]2+		
269	7,32	Método 4	>99	1475,8356	1475,8540	[M+2H]2+	98,50	98,50
270	9,77	Método 1	>99	1560,8156	1560,8218	[M+2H]2+		
271	8,7	Método 1	97,00	1480,7530	1480,7600	[M+2H]2+		
272	9,47	Método 1	97,47	1594,8034	1594,8198	[M+2H]2+		
273	10,12	Método 1	84,96	1533,8047	1533,8212	[M+2H]2+	93,10	91,60
274	10,75	Método	>99	1307,7094	1307,7134	[M+H]+		

		1						
275	4,62	Método 6	92,32	1481,7371	1481,74	[M+H]+		
276	4,43	Método 2	>99	1481,7371	1481,7500	[M+2H]2+		
277	8,83	Método 1	96,32	1480,7530	1480,7588	[M+2H]2+		
278	4,56	Método 2	93,63	1494,7687	1494,7814	[M+2H]2+		
279	10,29	Método 1	98,00	1578,8082	1578,8230	[M+2H]2+		
280	10,19	Método 1	98,00	1267,6781	1267,6785	[M+H]+	99,10	95,80
281	4,39	Método 2	>99	1481,7371	1481,7378	[M+2H]2+		
282	9,11	Método 1	93,00	1506,7687	1506,7738	[M+2H]2+		
283	9,28	Método 1	>99	1578,8262	1578,8412	[M+2H]2+		
284	10,26	Mé-	>99	1432,7	1432,8096	[M+2H	99,4	99,1

		todo 4		934		]2+	0	0
285	9,45	Mé-todo 1	>99	1364,7672	1364,7725	[M+H]+		
286	4,43	Mé-todo 2	95,85	1455,7214	1455,7370	[M+2H]2+		
287	8,81	Mé-todo 1	>99	1499,7276	1499,7358	[M+2H]2+		
288	8,94	Mé-todo 1	>99	1495,7527	1495,7644	[M+2H]2+		
289	9,01	Mé-todo 1	>99	1495,7527	1495,7592	[M+2H]2+		
290	9,66	Mé-todo 1	84,19	1493,7734	1493,7802	[M+H]+	93,60	90,80
291	8,86	Mé-todo 4	93,41	1523,8356	1523,85	[M+2H]2+		
292	4,85	Mé-todo 2	>99	1323,7043	1323,7204	[M+2H]2+		
293	9,8	Mé-todo 1	95,00	1491,7942	1491,8200	[M+2H]2+		

294	10,33	Método 1	78,00	1555,7891	1555,8006	[M+2H]2+	95,19	92,10
295	10,4	Método 1	86,71	1569,8047	1569,8000	[M+H]+	93,00	90,90
296	10,43	Método 4	100	1502,8353	1502,8522	[M+2H]2+		
297	8,91	Método 1	95,00	1494,7687	1494,7766	[M+2H]2+		
298	11,01	Método 1	>99	1358,7203	1358,7314	[M+2H]2+		
299	9,01	Método 1	>99	1521,7796	1521,7836	[M+2H]2+		
300	9,51	Método 1	>99	1509,7684	1509,7814	[M+2H]2+		
301	10,82	Método 1	>99	1307,7094	1307,7118	[M+H]+		
302	9,26	Método 1	>99	1534,6828	1534,6974	[M+2H]2+		
303	7,31	Método	>99	1433,7887	1433,8066	[M+2H]2+	96,50	96,30

		4						
304	10,30	Método 4	98,25	1502,8353	1502,8516	[M+2H]2+		
305	10,41	Método 1	>99	1351,7400	1351,7415	[M+H]+		
306	8,8	Método 1	>99	1481,7371	1481,7496	[M+2H]2+		
307	7,79	Método 4	>99	1562,8313	1562,8488	[M+2H]2+		
308	10,14	Método 1	87,08	1533,8047	1533,8218	[M+2H]2+	96,70	95,10
309	10,3	Método 1	86,87	1535,8204	1535,8376	[M+2H]2+	96,90	90,20
310	7,09	Método 4	>99	1407,7730	1407,7906	[M+2H]2+	99,20	99,20
311	10,27	Método 4	>99	1469,7887	1469,8040	[M+2H]2+	99,00	99,40
312	4,46	Método 2	>99	1481,7371	1481,7504	[M+2H]2+		
313	8,7	Mé-	>99	1469,7	1469,7474	[M+2H		

		todo 1		371		]2+		
314	8,75	Mé-todo 1	91,20	1524,7429	1524,7560	[M+2H]2+		
315	9,91	Mé-todo 1	83,68	1519,7891	1519,8056	[M+2H]2+	95,10	93,60
316	7,06	Mé-todo 4	>99	1336,7359	1336,7536	[M+2H]2+	99,60	99,90
317	8,66	Mé-todo 1	93,96	1383,7003	1383,7078	[M+2H]2+		
318	8,96	Mé-todo 1	>99	1481,7371	1481,7454	[M+2H]2+		
319	9,35	Mé-todo 1	89,58	1576,8469	1576,8584	[M+2H]2+		
320	9,31	Mé-todo 1	89,56	1610,8524	1681,9082	[M+2H]2+	97,20	95,40
321	6,48	Mé-todo 4	92,95	1505,7483	1505,7668	[M+2H]2+	92,90	88,80
322	9,00	Mé-todo 4	98,26	1503,8669	1503,8840	[M+2H]2+	96,60	95,10

323	9,35	Mé-todo 1	>99	1521,7684	1521,7868	[M+2H]2+		
324	9,09	Mé-todo 1	>99	1493,7371	1493,7424	[M+2H]2+		
325	8,9	Mé-todo 1	97,47	1501,7058	1501,7144	[M+2H]2+		
326	4,71	Mé-todo 2	>99	1524,7613	1524,7768	[M+2H]2+		
327	9,77	Mé-todo 1	87,14	1537,7997	1537,8162	[M+2H]2+	96,70	92,20
328	8,99	Mé-todo 4	94,93	1603,8466	1603,8682	[M+2H]2+	98,50	97,80
329	8,74	Mé-todo 1	99,70	1455,7214	1455,7486	[M+2H]2+		
330	9,05	Mé-todo 4	85,36	1676,7418	1676,7586	[M+2H]2+	91,30	91,40
331	9,01	Mé-todo 1	82,76	1480,7530	1480,7602	[M+2H]2+		
332	9,35	Mé-todo	92,34	1550,8313	1550,8400	[M+2H]2+		

		1						
333	11,32	Método 1	>99	1323,7407	1323,7457	[M+H]+		
334	10,37	Método 1	85,11	1547,8204	1547,8366	[M+2H]2+	95,80	93,90
335	10,04	Método 4	>99	1504,8510	1504,8710	[M+2H]2+	95,80	96,80
336	7,75	Método 4	>99	1376,7672	1376,7836	[M+2H]2+	98,00	98,50
337	9,06	Método 1	96,83	1520,7091	1520,7232	[M+2H]2+		
338	8,42	Método 1	99,32	1467,7214	1467,7260	[M+2H]2+		
339	8,81	Método 1	>99	1495,7527	1495,7684	[M+2H]2+		
340	8,87	Método 1	>99	1494,7687	1494,7724	[M+2H]2+		
341	7,26	Método 4	>99	1279,7145	1279,7288	[M+2H]2+	96,50	96,60
342	8,71	Mé-	89,0	1549,7	1549,8172	[M+2H	90,4	89,4

		todo 4	3	997		]2+	0	0
343	10,63	Mé-todo 1	92,89	1561,8360	1561,8516	[M+2H]2+		
344	8,6	Mé-todo 1	94,15	1552,7742	1552,7908	[M+2H]2+		
345	6,62	Mé-todo 4	94,45	1239,6832	1239,6998	[M+2H]2+	97,10	95,30
346	8,95	Mé-todo 1	>99	1480,7530	1480,7568	[M+2H]2+		
347	8,59	Mé-todo 4	>99	1492,7782	1492,7972	[M+2H]2+	98,80	98,90
348	8,48	Mé-todo 1	97,31	1483,7163	1483,7342	[M+2H]2+		
349	9,6	Mé-todo 1	>99	1535,7840	1535,7942	[M+2H]2+		
350	8,88	Mé-todo 1	95,86	1494,7687	1494,7754	[M+2H]2+		
351	10,41	Mé-todo 1	84,00	1547,8204	1547,8358	[M+2H]2+	96,10	94,10

352	9,51	Método 4	>99	1862,9457	1862,9551	[M+2H]2+	97,70	95,00
353	10,54	Método 1	>99	1293,6937	1293,6958	[M+H]+		
354	8,97	Método 1	>99	1499,7276	1499,7348	[M+2H]2+		
355	4,52	Método 2	90,00	1496,7480	1496,7520	[M+2H]2+		
356	10,58	Método 1	93,20	1549,8360	1549,8502	[M+2H]2+		
357	8,82	Método 1	>99	1483,7163	1483,7282	[M+2H]2+		
358	11,05	Método 1	>99	1309,7250	1309,6000	[M+2H]2+	98,30	97,50
359	10,49	Método 4	>99	1434,8091	1434,8240	[M+2H]2+	98,60	98,90
360	9,22	Método 4	96,98	1618,8728	1618,8882	[M+2H]2+	96,18	97,30
361	7,43	Método	95,37	1504,8258	1504,8430	[M+2H]2+	98,20	97,20

		4						
362	9,2	Mé-todo 1	94,52	1556,7843	1556,8050	[M+2H]2+		
363	9,35	Mé-todo 4	85,07	1861,9617	1861,9685	[M+H]+	97,70	95,00
364	9,21	Mé-todo 1	97,74	1562,8313	1562,8390	[M+2H]2+		
365	10,56	Mé-todo 1	80,41	1549,8360	1549,8518	[M+2H]2+	94,70	92,90
366	10,82	Mé-todo 1	>99	1595,7065	1595,7192	[M+2H]2+	97,30	94,40
367	9,64	Mé-todo 1	99,58	1535,7840	1535,8040	[M+2H]2+		
368	7,84	Mé-todo 4	>99	1280,6985	1280,7178	[M+2H]2+	99,60	99,70
369	8,24	Mé-todo 4	>99	1506,7938	1506,8094	[M+2H]2+	95,40	95,80
370	8,98	Mé-todo 4	>99	1523,8356	1523,8492	[M+2H]2+	97,12	97,08
371	7,10	Mé-	>99	1433,7	1433,8050	[M+2H	93,5	91,7

		todo 4		887		]2+	0	0
372	8,07	Mé-todo 4	>99	1505,8098	1505,9486	[M+2H]2+	99,40	98,80
373	4,37	Mé-todo 2	>99	1494,7687	1494,7726	[M+2H]2+		
374	9,06	Mé-todo 1	92,43	1494,7700	1494,7854	[M+2H]2+		
375	10,32	Mé-todo 4	95,26	1550,8201	1550,8392	[M+2H]2+		
376	7,60	Mé-todo 1	>99	1447,8043	1447,8248	[M+2H]2+		
377	7,50	Mé-todo 4	>99	1504,8258	1504,8388	[M+2H]2+	93,50	96,90
378	7,51	Mé-todo 4	>99	1530,8415	1530,8574	[M+2H]2+	99,10	99,70
379	7,20	Mé-todo 4	>99	1350,7516	1350,7680	[M+2H]2+	97,30	99,00
380	8,26/8,34	Mé-todo 1	70/29	1483,7163	1483,7374	[M+2H]2+		

381	3,9	Método 4	>99	1750,011	1750,0326	[M+3H]3+	99,37	98,66
382	11,06	Método 1	>99	1321,7250	1321,7286	[M+H]+		
383	9,91	Método 1	>99	1365,7500	1365,7630	[M+2H]2+		
384	9,15	Método 1	87,43	1521,6931	1521,6976	[M+2H]2+		
385	10,68	Método 1	83,28	1583,8204	1583,8368	[M+2H]2+	96,30	91,20
386	4,55	Método 2	>99	1481,7371	1481,7494	[M+2H]2+		
387	9,46	Método 1	93,47	1495,7527	1495,7636	[M+2H]2+		
388	8,07	Método 4	>99	1505,8098	1505,8246	[M+2H]2+	97,80	97,10
389	8,75	Método 1	93,22	1478,7374	1478,7462	[M+2H]2+		
390	8,89	Método	>99	1499,7276	1499,7360	[M+2H]2+		

		1						
391	10,75	Método 1	91,00	1547,8204	1547,8280	[M+2H]2+		
392	9,55	Método 1	88,42	1509,7684	1509,7812	[M+2H]2+		
393	8,73	Método 1	>99	1481,7371	1481,7432	[M+2H]2+		
394	4,39	Método 2	95,41	1480,7530	1480,7642	[M+2H]2+		
395	9,64	Método 1	84,41	1579,8102	1579,8260	[M+2H]2+	93,40	90,50
396	10,54	Método 4	>99	1337,7563	1337,7660	[M+H]+	99,30	98,20
397	8,79	Método 1	>99	1493,7371	1493,7510	[M+2H]2+		
398	11,13	Método 1	>99	1309,7250	1309,7295	[M+H]+		
399	9,16	Método 1	88,00	1622,8637	1622,8866	[M+2H]2+		
400	9,66	Mé-	85,0	1549,7	1549,7778	[M+2H	95,5	93,8

		todo 1	0	633		]2+	0	0
401	4,54	Mé-todo 2	94,46	1384,6843	1384,7002	[M+2H]2+		
402	8,86	Mé-todo 1	>99	1509,7684	1509,7802	[M+2H]2+		
403	9,29	Mé-todo 1	93,30	1536,8156	1536,8306	[M+2H]2+		
404	10,21	Mé-todo 1	>99	1507,7891	1507,7944	[M+2H]2+		
405	4,24	Mé-todo 4	>99	1790,0423	1791,0678	[M+3H]3+	99,08	98,69
406	10,45	Mé-todo 4	98,71	1584,8044	1584,8186	[M+2H]2+		
407	9,21	Mé-todo 4	83,34	1607,8415	1607,8578	[M+2H]2+	96,00	94,40
408	11,12	Mé-todo 1	>99	1321,7250	1321,7258	[M+H]+		
409	8,77	Mé-todo 1	97,00	1626,8109	1626,8200	[M+2H]2+		

410	8,59/8,66	Método 1	59/40	1483,7163	1483,7370	[M+2H]2+		
411	8,95	Método 1	94,75	1480,7530	1480,7630	[M+2H]2+		
412	5,62	Método 4	97,66	1448,836	1448,8554	[M+3H]3+	96,30	97,40
413	4,36	Método 2	>99	1480,7530	1480,7612	[M+2H]2+		
414	8,7	Método 1	>99	1485,7120	1485,7238	[M+2H]2+		
415	10,87	Método 1	91,80	1575,8517	1575,8652	[M+2H]2+		
416	9,36	Método 1	>99	1579,6163	1579,6200	[M+2H]2+		
417	9,15	Método 1	>99	1494,7687	1494,7736	[M+2H]2+		
418	8,39	Método 4	>99	1562,8313	1562,9000	[M+2H]2+	97,31	97,42
419	8,44	Método	>99	1474,8040	1476,8178	[M+2H]2+		

		4						
420	4,01	Mé-todo 3	>99	1562,8313	1562,8422	[M+2H]2+		
421	7,57	Mé-todo 4	98,63	1678,9514	1680,9710	[M+2H]2+		
422	7,67	Mé-todo 4	95,55	1708,9620	1710,9742	[M+2H]2+		
423	7,72	Mé-todo 4	>99	1722,9776	1724,9942	[M+2H]2+		
424	7,85	Mé-todo 4	94,30	1752,9882	1755,0024	[M+2H]2+		
425	7,80	Mé-todo 4	97,93	1811,0300	1814,0484	[M+2H]2+		
426	7,96	Mé-todo 4	98,96	1855,0563	1858,0758	[M+2H]2+		
427	8,19	Mé-todo 4	>99	1899,0825	1902,1006	[M+2H]2+		
428	8,73	Mé-todo 4	94,64	2030,1043	2032,1148	[M+2H]2+		
429	7,84	Mé-	>99	1778,0	1780,0348	[M+2H		

		todo 4		198		]2+		
430	4,37	Mé-todo 4	>99	1750,0110	1753,0326	[M+3H]3+		
431	8,62	Mé-todo 4	>99	1561,7997	1565,8452	[M+2H]2+		
432	8,65	Mé-todo 4	>99	1561,7997	1565,4816	[M+2H]2+		
433	2,85	Mé-todo 5	85,05	1735,9113	1737,9288	[M+2H]2+		
435	2,70	Mé-todo 5	94,14	1767,0038	1770,0200	[M+2H]2+		
436	8,33	Mé-todo 4	98,11	1726,9011	1728,9172	[M+2H]2+		
437	8,43	Mé-todo 4	>99	1629,8483	1631,8630	[M+2H]2+		
438	8,54	Mé-todo 4	97,07	1571,8568	1573,8716	[M+2H]2+		
439	7,58	Mé-todo 4	>99	1433,7887	1435,8152	[M+2H]2+		

440	7,43	Método 4	>99	1463,7229	1465,7404	[M+2H]2+		
441	8,34	Método 4	>99	1517,7699	1519,7886	[M+2H]2+		
443	7,73	Método 4	>99	1483,7855	1485,8006	[M+2H]2+		
444	6,79	Método 4	>99	1527,8418	1529,8576	[M+2H]2+		
445	7,63	Método 4	>99	1483,7855	1485,8018	[M+2H]2+		
446	8,65	Método 4	91,93	1563,8153	1563,8272	[M+2H]2+	95,35	98,58
447	2,65	Método 5	>99	1635,8629	1635,8760	[M+2H]2+	98,66	99,22
448	5,44	Método 4	97,04	1462,8265	1465,8501	[M+3H]3+	95,79%	97,26%
449	8,33	Método 4	86,83	1559,8568	1561,8714	[M+2H]2+		
450	9,24	Método	90,97	1589,9037	1591,9208	[M+2H]2+		

		4						
451	8,61	Método 4	95,66	1573,8724	1575,8884	[M+2H]2+		
452	8,24	Método 4	96,26	1559,8568	1561,8714	[M+2H]2+		
453	8,53	Método 4	94,00	1573,8724	1575,8874	[M+2H]2+		
454	7,96	Método 4	>99	1562,8313	1564,8458	[M+2H]2+		
455	8,47	Método 4	>99	1559,8568	1561,8710	[M+2H]2+		
456	8,28	Método 4	>99	1545,8411	1547,8552	[M+2H]2+		
457	9,44	Método 4	>99	1632,8004	1634,8240	[M+2H]2+		
458	2,61	Método 5	>99	1534,8364	1536,8654	[M+2H]2+	96,68%	96,99%
459	2,85	Método 5	>99	1391,7669	1393,7826	[M+2H]2+	89,95%	99,44%
460	2,84	Mé-	>99	1391,7	1393,7810	[M+2H	97,7	98,4

		todo 5		669		]2+	1%	6%
462	8,76	Mé-todo 4	78,21	1665,9099	1667,9238	[M+2H]2+	95,17%	93,69%
463	7,12	Mé-todo 4	94,14	1691,9103	1694,9349	[M+3H]3+	97,30%	90,79%
464	8,26	Mé-todo 4	>99	1620,8368	1622,8530	[M+2H]2+	97,37%	94,11%
465	8,39	Mé-todo 4	>99	1676,8994	1678,9132	[M+2H]2+	98,76%	99,20%
466	8,11	Mé-todo 4	>99	1678,8422	1680,8566	[M+2H]2+	99,18%	98,78%
467	6,96	Mé-todo 4	>99	1534,8364	1537,8579	[M+3H]3+	99,05%	99,51%
468	8,26	Mé-todo 4	94,77	1651,9041	1653,9234	[M+2H]2+	96,08%	96,72%
469	6,87	Mé-todo 4	>99	1606,8575	1609,8813	[M+3H]3+	97,93%	96,22%
470	8,71	Mé-todo 4	>99	1681,9147	1683,9302	[M+2H]2+	96,68%	92,70%

471	8,40	Método 4	>99	1796,9416	1798,9566	[M+2H]2+	97,03%	95,29%
472	8,56	Método 4	>99	1783,9828	1785,9958	[M+2H]2+	97,03%	95,29%
473	8,39	Método 4	>99	1563,8153	1563,8244	[M+2H]2+		
474	6,65	Método 4	95,2	1463,7993	1463,816	[M+2H]2+		
475	7,74	Método 4	>99	1549,7997	1549,8134	[M+2H]2+	97,03	95,07
476	9,69	Método 4	>99	1595.,8568	1595,8710	[M+2H]2+	95,68	96,16
477	9,87	Método 4	>99	1595,8568	1595,8712	[M+2H]2+	96,85	97,09
478	9,84	Método 4	>99	1595,8568	1595,8668	[M+2H]2+	96,50	94,73
479	6,83	Método 4	>99	1552,8106	1552,8284	[M+2H]2+	96,16	94,86
480	7,51	Método	99,0	1549,7997	1549,8132	[M+2H]2+	94,8	96,2

		4						
481	7,59	Método 4	>99	1549,7997	1549,8206	[M+2H]2+	97,55	97,23
482	8,32	Método 4	>99	1599,8153	1599,8326	[M+2H]2+	98,99	98,86
483	8,85	Método 4	94,52	1639,8466	1639,8596	[M+2H]2+	98,56	98,33
484	8,50	Método 4	>99	1766,9311	1766,9468	[M+2H]2+	98,65	97,21
485	7,77	Método 4	>99	1655,8990	1655,9152	[M+2H]2+	98,60	99,16
486	2,31	Método 5	97,6	1637,8633	1637,8754	[M+2H]2+	95,81	96,13
487	2,52	Método 5	>99	1604,8895	1604,9038	[M+2H]2+	99,01	98,81
488	2,95	Método 5	>99	1603,8466	1603,8610	[M+2H]2+	98,08	98,25
489	2,84	Método 5	>99	1603,8466	1603,8684	[M+2H]2+	99,49	98,23
490	3,40	Mé-	>99	1697,8	1697,8294	[M+2H	99,3	99,1

		todo 5		157		]2+	8	7
491	3,43	Mé-todo 5	>99	1697,8157	1697,8316	[M+2H]2+	96,36	96,84
492	2,86	Mé-todo 5	>99	1549,8360	1549,8488	[M+2H]2+	98,14	98,16
493	2,93	Mé-todo 5	97,60	1611,8517	1611,8664	[M+2H]2+	97,58	97,80
494	2,88	Mé-todo 5	97,96	1634,8524	1634,8662	[M+2H]2+	97,13	97,02
495	2,97	Mé-todo 5	>99	1620,8368	1620,8538	[M+2H]2+	98,60	98,29
496	8,11	Mé-todo 4	>99	1685,9096	1685,9238	[M+2H]2+	95,64	96,06
497	7,90	Mé-todo 4	95,72	1621,8684	1621,8810	[M+2H]2+	92,88	92,81
498	7,49	Mé-todo 4	>99	1567,8466	1567,8568	[M+2H]2+	98,13	98,05
499	8,47	Mé-todo 4	>99	1573,8030	1573,8528	[M+2H]2+		

500	8,40	Método 4	>99	1722,9048	1722,9200	[M+2H]2+	98,10	99,55
501	7,86	Método 4	98,44	1770,9260	1770,9408	[M+2H]2+	97,32	96,25
502	7,70	Método 4	99,09	1563,8153	1563,8320	[M+2H]2+	97,46	96,62
503	8,29	Método 4	>99	1876,0301	1876,0302	[M+2H]2+	95,23	94,54
504	8,41	Método 4	>99	1991,0571	1991,0740	[M+2H]2+	96,55	96,43
505	8,23	Método 4	>99	1832,0039	1832,0216	[M+2H]2+	95,43	96,86
506	7,98	Método 4	98,67	1641,8834	1641,8986	[M+2H]2+	97,81	97,21
507	7,86	Método 4	>99	1521,7684	1521,7926	[M+2H]2+		
508	7,63	Método 4	>99	1563,7401	1563,7564	[M+2H]2+		
509	7,75	Método	>99	1523,7840	1523,8000	[M+2H]2+		

		4						
510	8,35	Método 4	>99	1633,8572	1633,8688	[M+2H]2+		
511	2,58	Método 5	>99	1535,6668	1535,6802	[M+2H]2+	87,38	89,08
512	4,12	Método 5	>99	1974,1298	1974,1506	[M+2H]2+	95,15	95,33
513	3,96	Método 5	>99	1903,0927	1903,1106	[M+2H]2+	96,44	95,38
514	2,65	Método 5	>99	1611,8728	1611,8852	[M+2H]2+	95,68	95,22
515	2,79	Método 5	>99	1591,8466	1591,8600	[M+2H]2+	97,20	97,37
516	2,73	Método 5	>99	1549,7244	1549,7380	[M+2H]2+	93,87	95,17
517	2,90	Método 5	>99	1591,7714	1591,7908	[M+2H]2+	91,59	93,39
518	1,75	Método 5	>99	1355,6366	1355,6494	[M+2H]2+	97,11	98,05
519	2,67	Mé-	>99	1579,7	1579,7548	[M+2H	95,6	96,4

		todo 5		339		]2+	9	0
520	2,68	Mé-todo 5	>99	1593,7495	1595,7636	[M+2H]2+	97,27	96,99
521	2,66	Mé-todo 5	>99	1694,7608	1694,7798	[M+2H]2+	95,48	95,35
522	2,79	Mé-todo 5	>99	1549,7997	1549,8140	[M+2H]2+	97,12	96,45
523	2,82	Mé-todo 5	>99	1563,8153	1563,8312	[M+2H]2+	95,87	96,34
524	2,82	Mé-todo 5	>99	1563,7401	1573,7518	[M+2H]2+	91,95	92,65
525	8,24	Mé-todo 4	84,39	1575,8153	1575,8416	[M+2H]2+		
526	2,70	Mé-todo 5	>99	1535,7840	1535,7966	[M+2H]2+	96,07	95,73
527	3,11	Mé-todo 5	98,08	1644,9095	1644,9230	[M+2H]2+	98,01	96,26
528	2,99	Mé-todo 5	95,62	1589,8310	1589,8490	[M+2H]2+	75,28	75,57

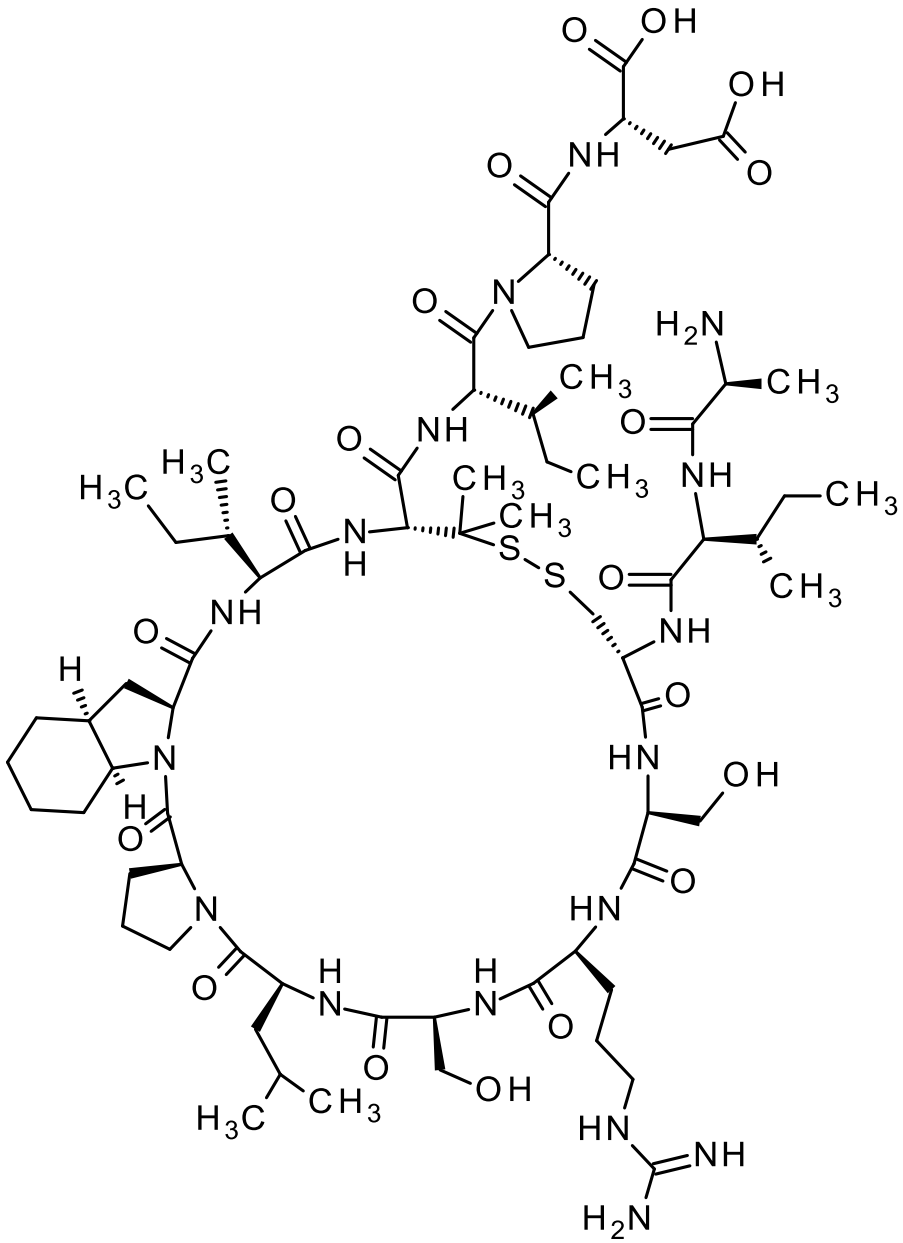
529	6,47	Método 4	95,44	1610,7231	1610,7386	[M+2H]2+	84,42	82,86
530	2,89	Método 5	>99	1559,8568	1559,8754	[M+2H]2+	97,07	96,79
531	2,94	Método 5	>99	1577,8310	1577,8492	[M+2H]2+	95,26	97,20
532	2,89	Método 5	>99	1545,8411	1545,8590	[M+2H]2+	97,87	96,49

Tabla 17: Datos del espectro de masas de Maldi para péptidos seleccionados

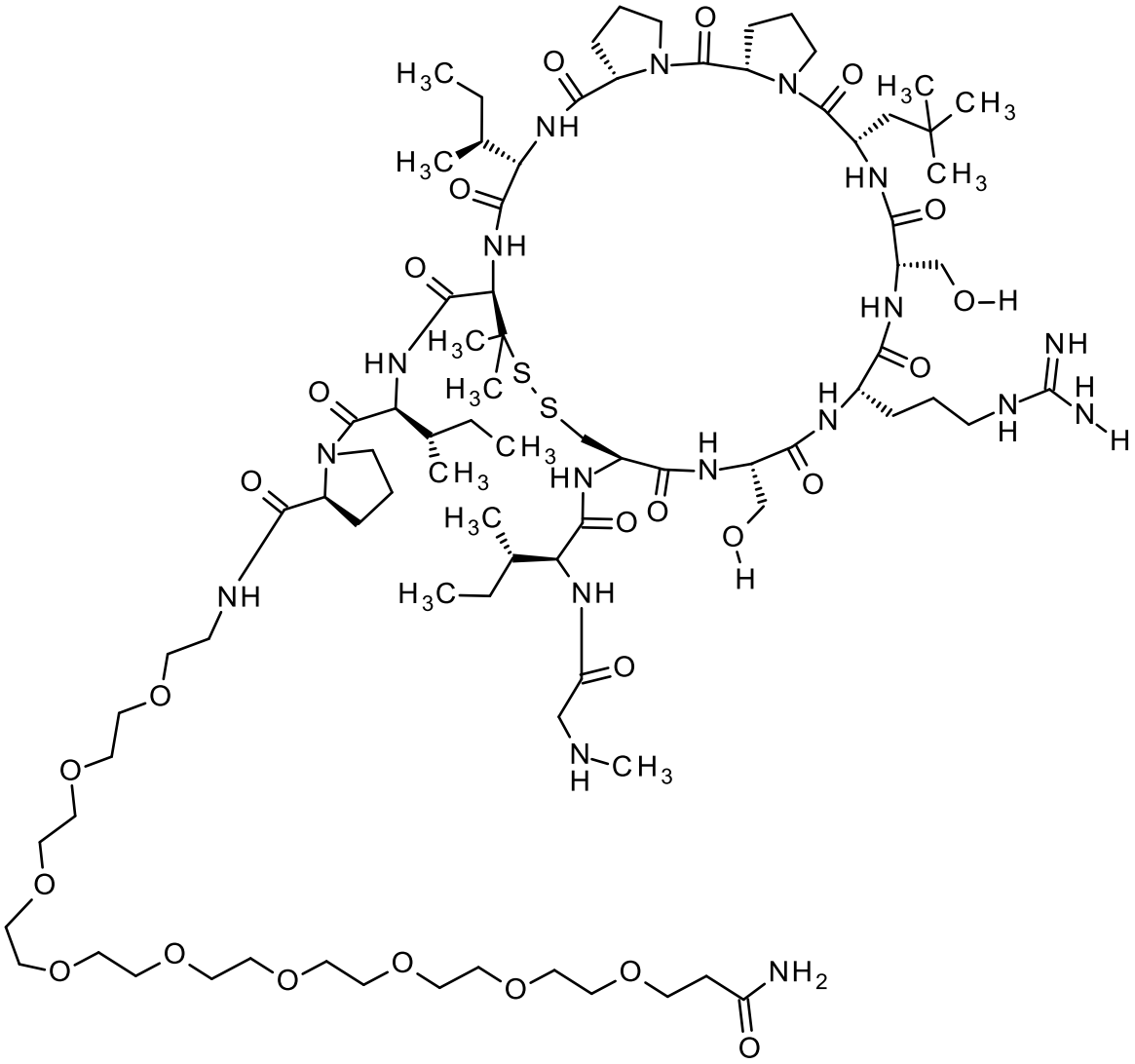
Ejemplo, N.º	**Método MALDI (Amu+1)**
512	1975,223
526	1536,827
527	1645,817
529	1611,761
530	1560,875
531	1578,866
532	1546,821
142	1566,863
237	1562,785

A continuación, se especifican los ejemplos 29, 44, 45, 67, 75, 109, 166, 185, 347, 443, 466 y 499 con su estructura química. Esta invención incluye sales, solventes o solventes de las sales farmacéuticamente aceptables de estos ejemplos. Las estructuras químicas se muestran como formas libres de sal.

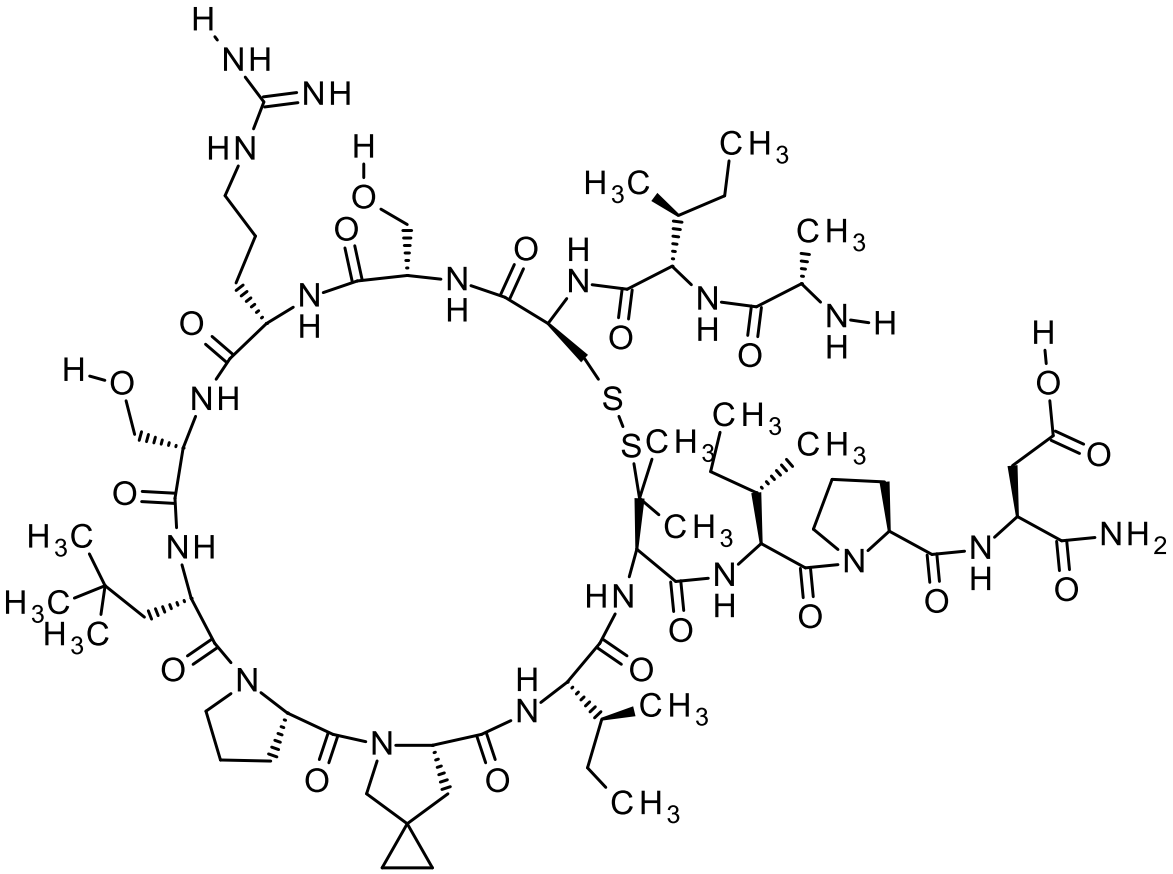
Ejemplo, 29, Secuencia: AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH (sal HCl)



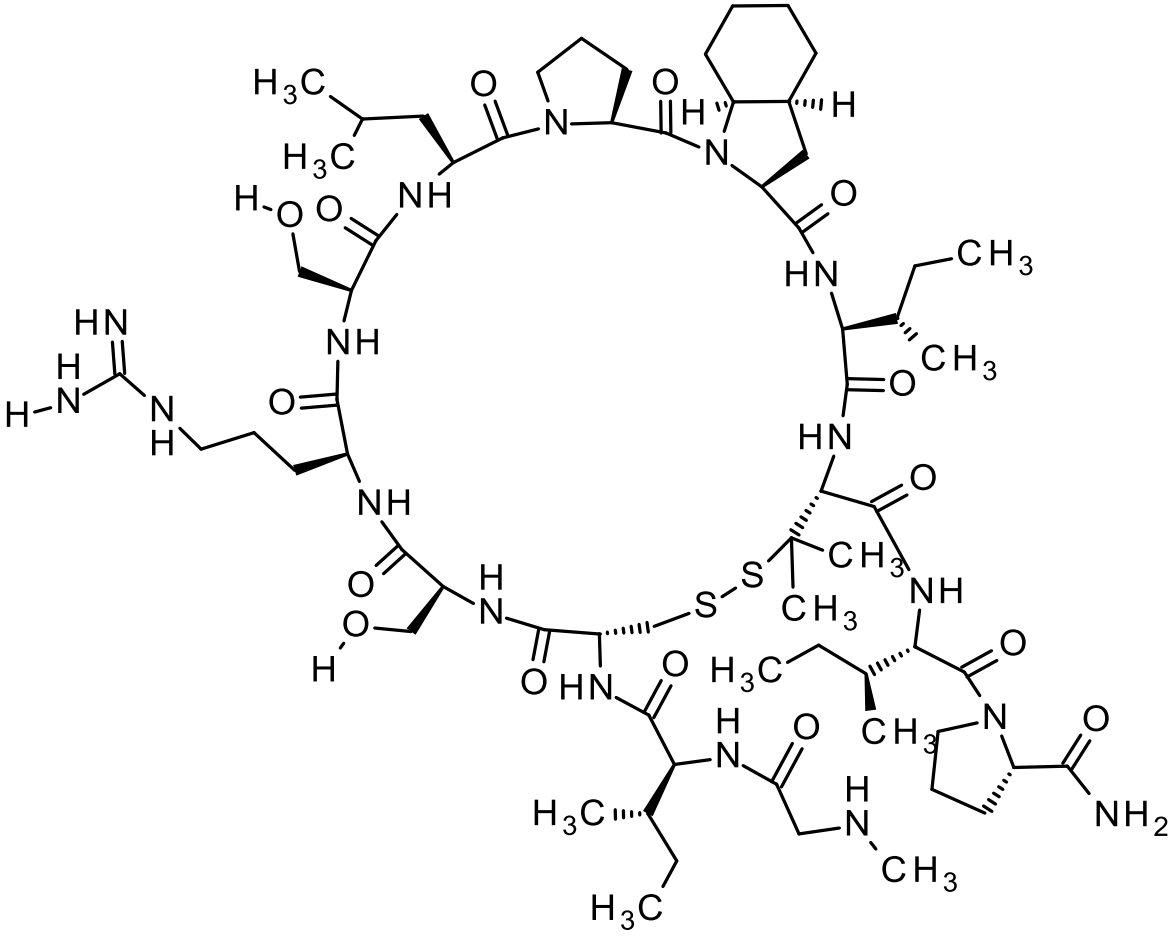
Ejemplo, 44, Secuencia: ((N-Me)G)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IP-(PEG9(31 átomos))-NH2



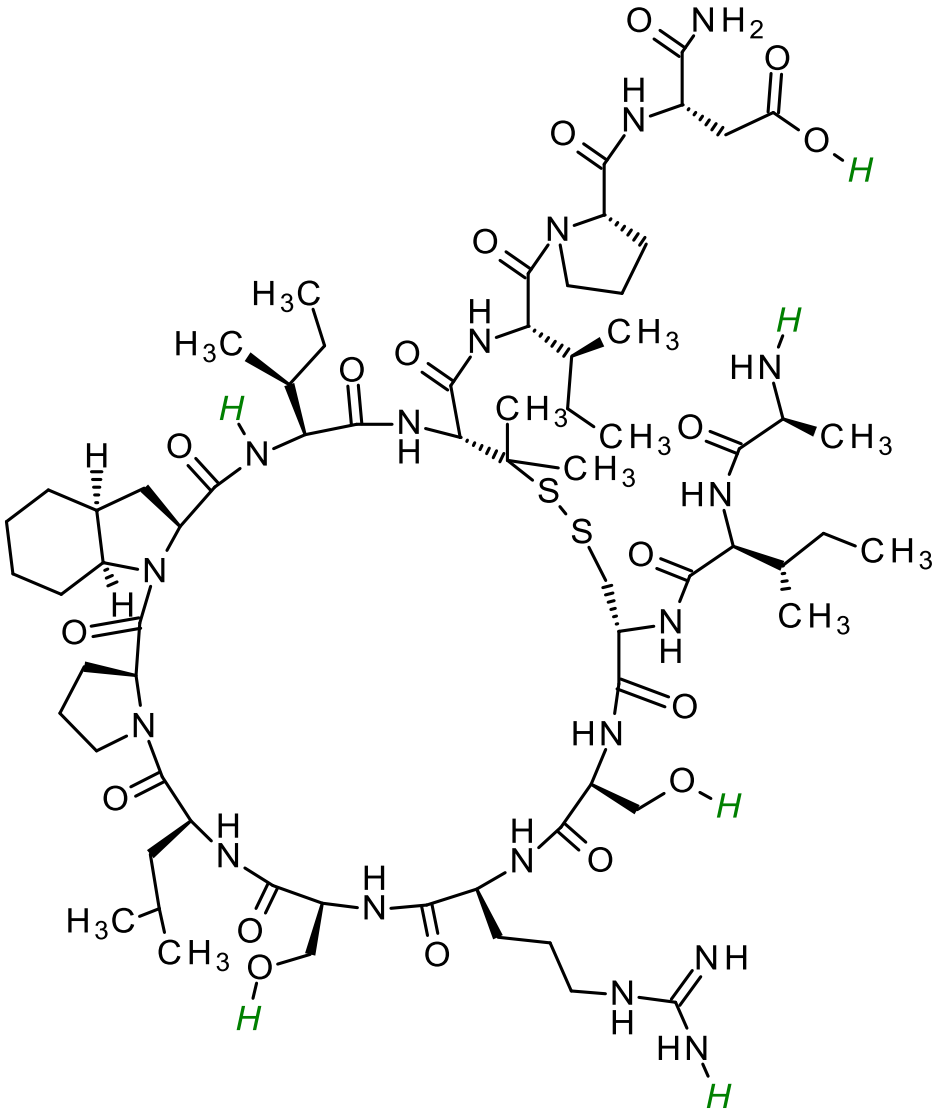
Ejemplo, 45, Secuencia: Ácido AI-C+SRS-((tBu)A)-P-((6S)-5-Azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico)-I-(Pen)+IPD-NH2



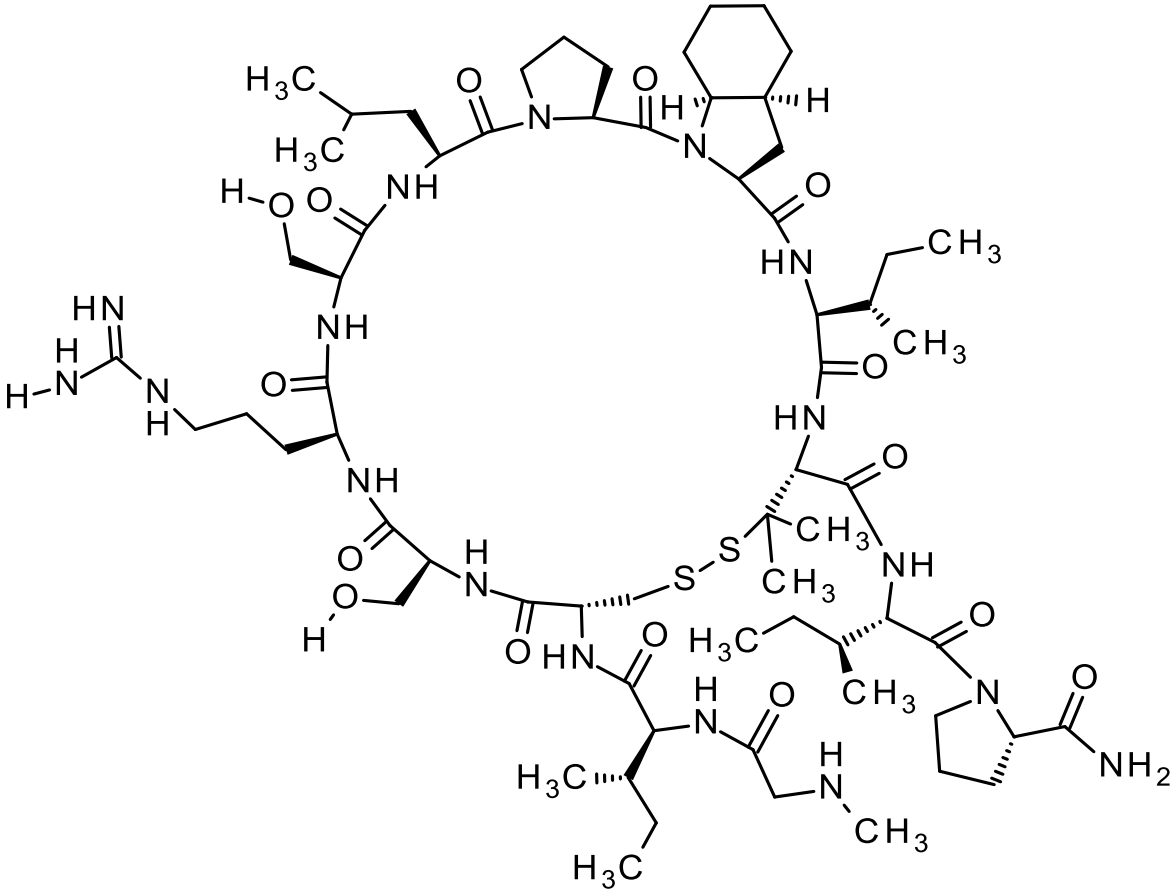
Ejemplo, 67, Secuencia: ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH2 (sal HCl)



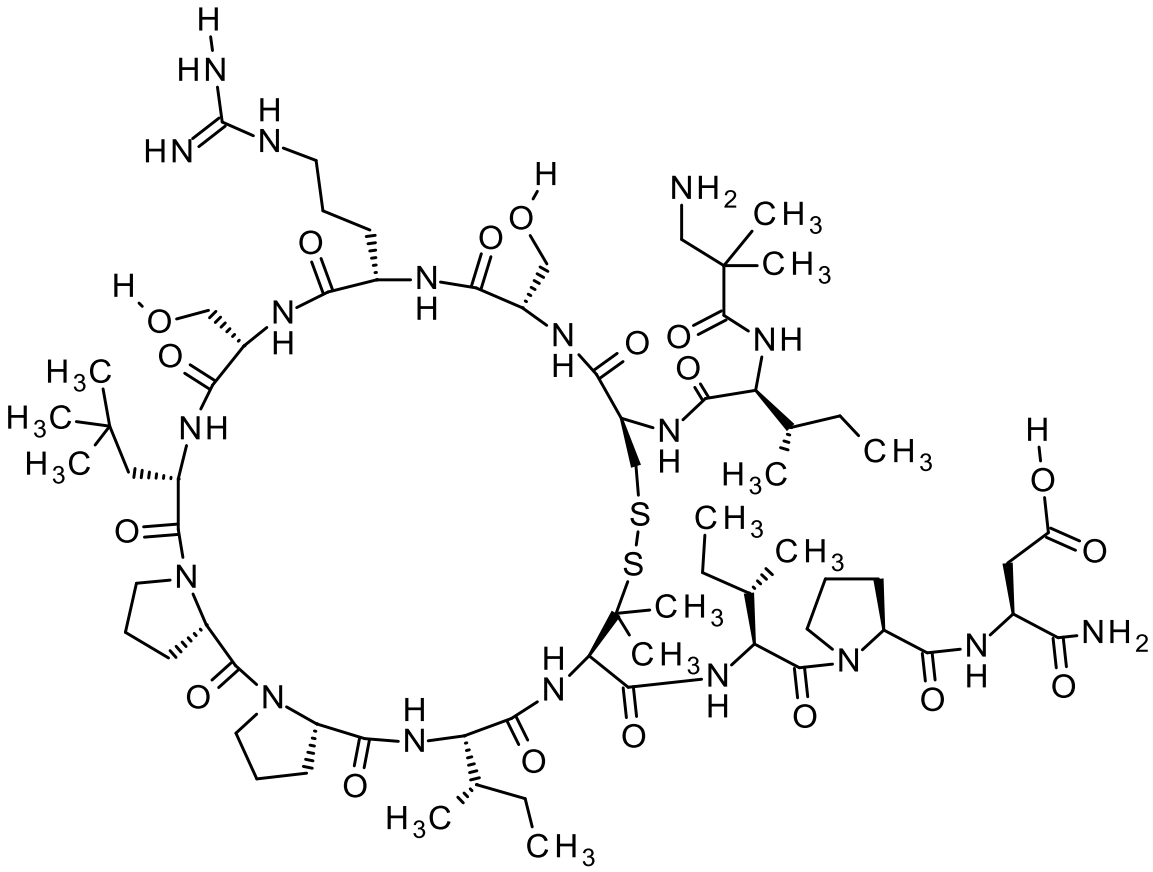
Ejemplo, 75, Secuencia: AIC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-NH2



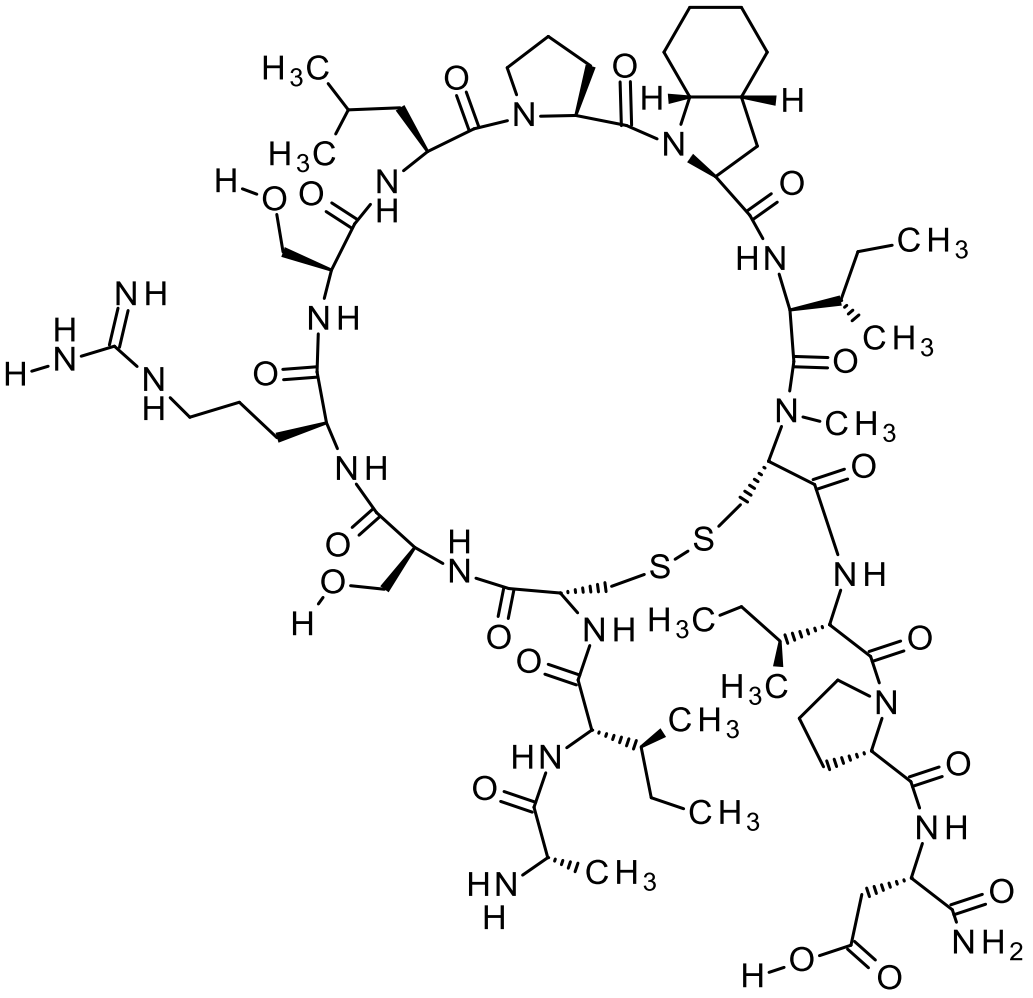
Ejemplo, 109, Secuencia: ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IP-NH2



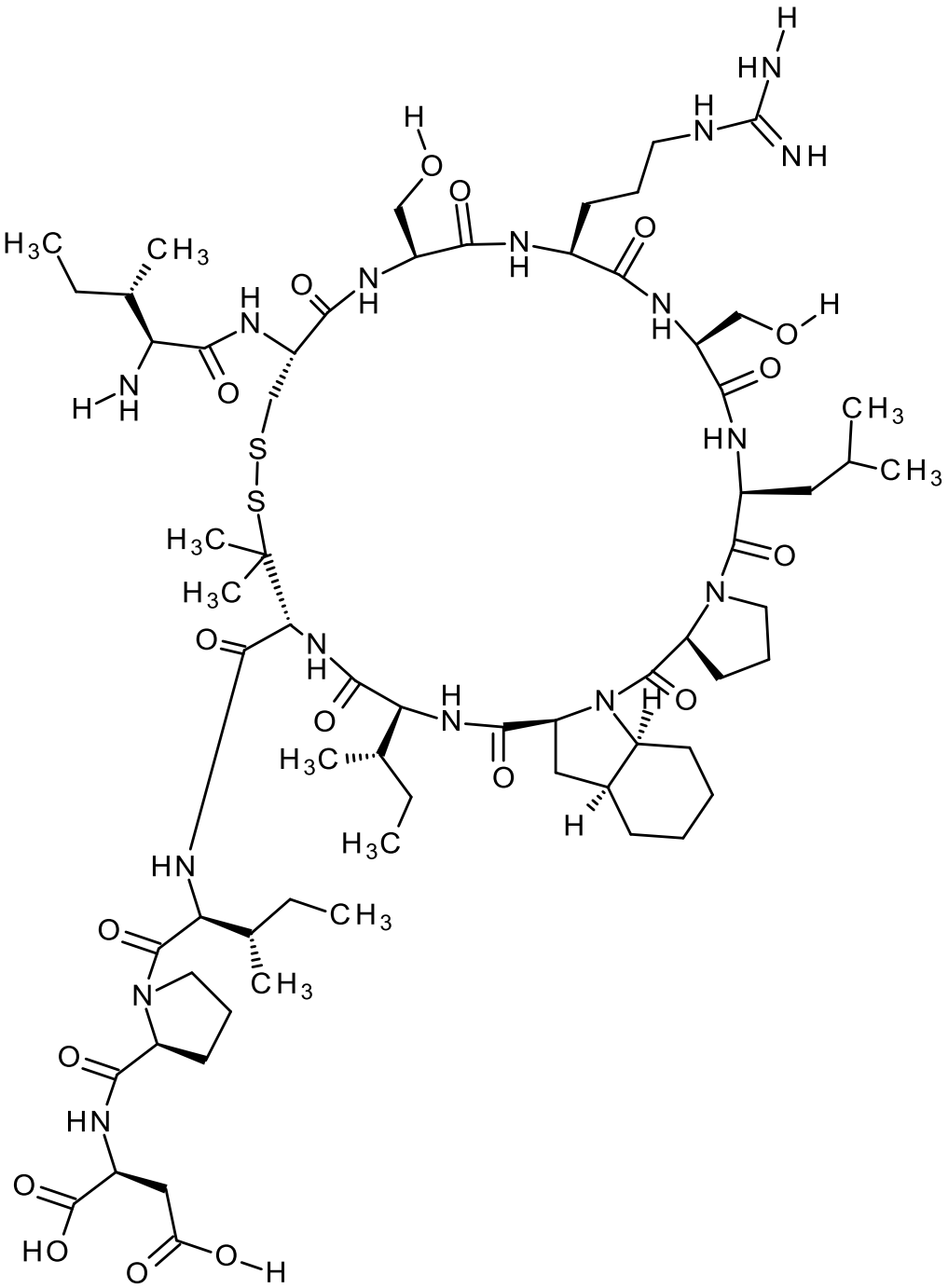
Ejemplo, 166, Secuencia: (Ácido 3-Amino-2,2-dimetilpropiónico)-IC+SRS-((tBu)A)-PPI-(Pen)+IPD-NH2



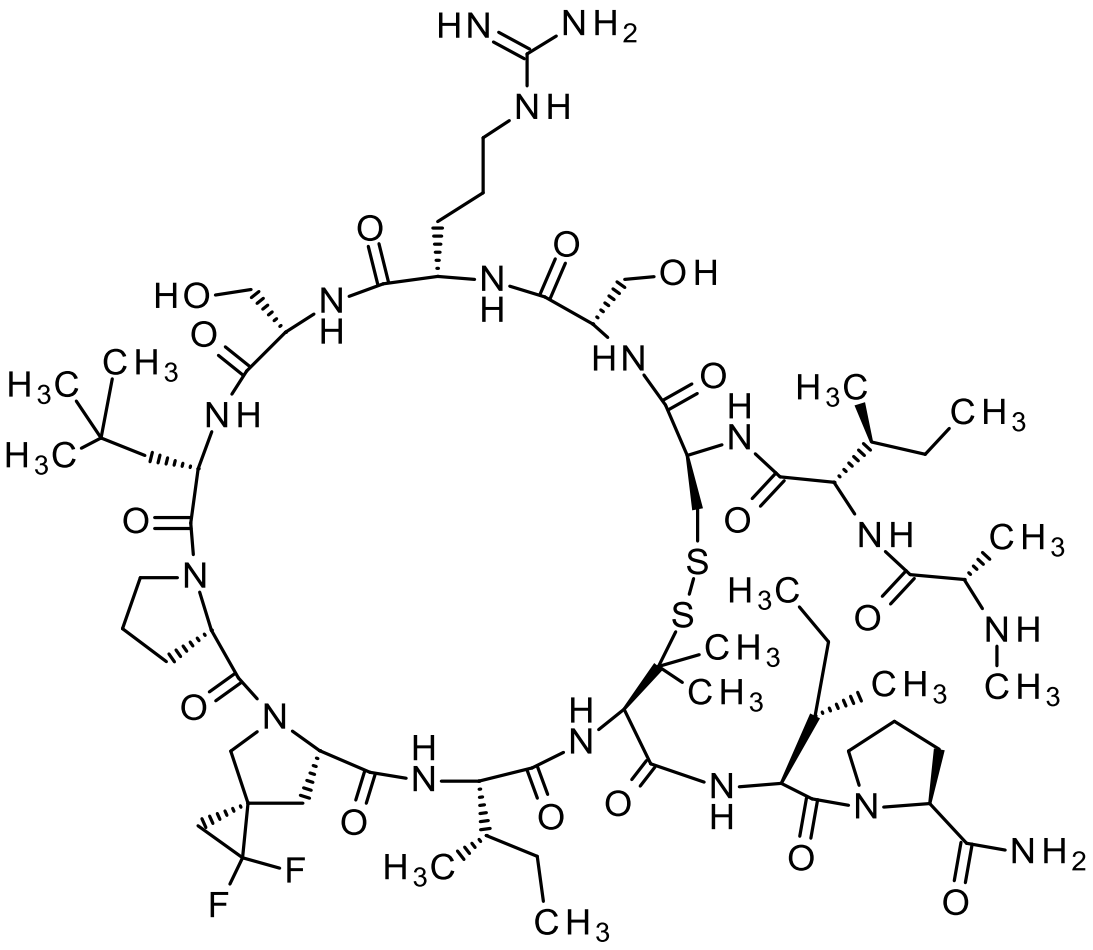
Ejemplo, 185, Secuencia: AIC+SRSLP-(Oic)-I-((N-Me)C)+IPD-NH2



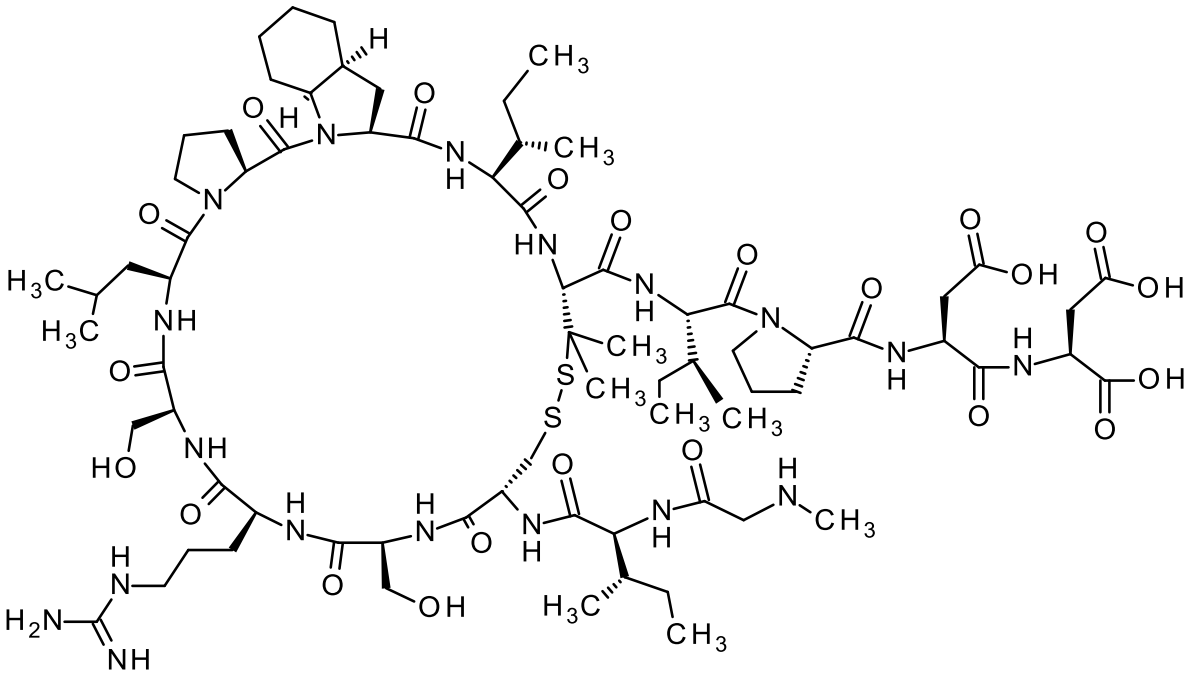
Ejemplo, 347, Secuencia: IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH



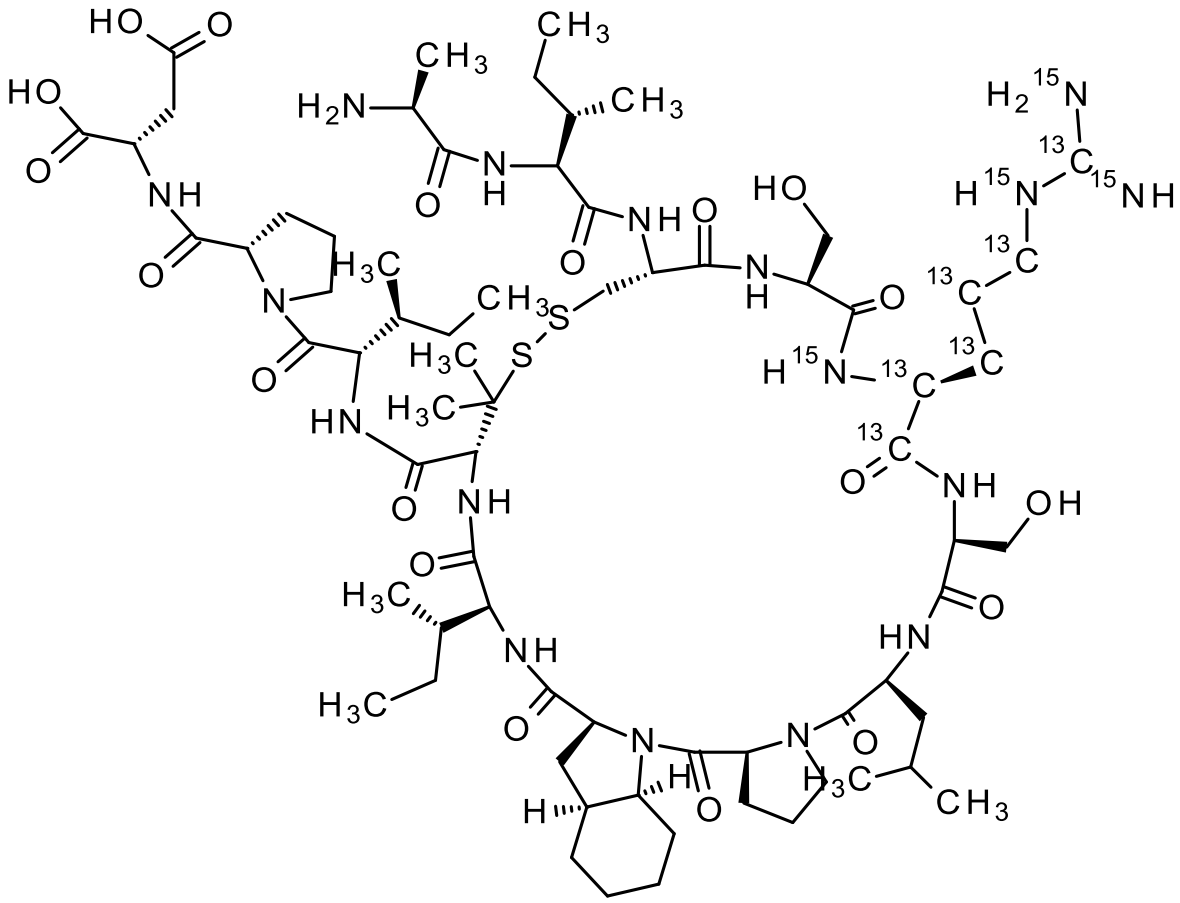
Ejemplo, 443, Secuencia: Ácido ((N-Me)A)-IC+SRS-((tBu)A)-P-((3R,6R)-1,1-Difluoro-5-azaspiro[2.4]heptano-6-carboxílico (enantiómero 1))-I-(Pen)+IP-NH2



Ejemplo, 466, Secuencia: ((N-Me)G)-IC+SRSLP-(Oic)-I-(Pen)+IPDD-OH



Ejemplo, 499, Secuencia: AIC+S-(Arg(13C6,15N4))-SLP-(Oic)-I-(Pen)+IPD-OH



Análisis biológicos *in vitro*

1. Perfil de la proteasa serina de los compuestos del análisis

Los compuestos del análisis se evaluaron en un panel de proteasa que consistía en diferentes proteasas serinas humanas que incluyen calicreina, plasmina, FXIa, trombina, factor Xa, tPA y tripsina.

Descripción del análisis

Se determinó la potencia inhibitoria y/o la selectividad de los compuestos del análisis. Los ensayos se basan en la detección fluorescente de aminometilcumarina (AMC), liberada de los sustratos peptídicos fluorógenos de la proteasa sobre el clivaje catalizado por la proteasa. Las proteasas o zimogenes activos,

generalmente purificados del plasma humano o para tripsina del páncreas humano, y los sustratos correspondientes están disponibles comercialmente.

Los ensayos de la proteasa sérica comprenden las siguientes enzimas y sustratos. Todas las enzimas y sustratos se diluyen en tampón de ensayo (50 mM Tris/HCl pH 7,4, 100 mM NaCl, 5 mM CaCl2, 0,1% BSA). Se obtienen las concentraciones finales del ensayo:

- Kallikrein (Kordia; 0,2 nM), H-Pro-Phe-Arg-AMC (Bachem I-1295; 5 µm)
- Plasmina (Kordia; 0,1 µg/mL, 1,2 nM), MeOSuc-Ala-Phe-Lys-AMC (Bachem I-1275; 50 µm)
- Factor XIa (Kordia; 0,15 nM), Boc-Glu(OBzl)-Ala-Arg-AMC (Bachem I-1575; 5 µm)
- Thrombin (Kordia; 0,02 nM), Boc-Asp(OBzl)-Pro-Arg-AMC (Bachem I-1560; 5 µm)
- Factor Xa (Kordia; 1,3 nM), Boc-Ile-Glu-Gly-Arg-AMC (Bachem I-1100; 5 µm)
- Activador de plasminógeno tisular (tPA, Loxo; 2 nM), CH3SO2-D-Phe-Gly-Arg-AMC (Pentapharm 091-06; 5 µm)
- Tripsina (Sigma; 0,042 U/mL), sustrato Boc-Ile-Glu-Gly-Arg-AMC (Bachem I-1100; 5 µm)

Para la determinación de la potencia de los compuestos del análisis, se utilizan la enzima y las diluciones de sustrato correspondientes para realizar los ensayos de la proteasa:

A 384 placas de microtitulación de pozos (blancas, Greiner), que contienen 1 µL/pozo de diluciones seriadas de compuestos de análisis o de referencia, se añaden 20 µL de tampón de ensayo, 20 µL de dilución de enzimas y 20 µL de sustrato. Las reacciones de control no contienen el compuesto de análisis (solo DMSO). Luego de una incubación de 30 minutos (cinética de reacción lineal) a temperatura ambiente, se mide la fluorescencia (ex 360 nm, em 465 nm) en un lector de fluorescencia de placa microtiter (por ejemplo, Tecan Safire II). Los

valores de IC_{50} se determinan trazando la concentración del compuesto de prueba logarítmica contra el porcentaje de actividad de la proteasa.

2. Ensayo bioquímico humano MASP-1 y MASP-2

2.1 Expresión recombinante y producción de proteínas de las proteasas activas recombinantes humanas MASP1 y MASP2.

Una secuencia de ADNc truncado de MASP1 humana que codifica el fragmento correspondiente a los aminoácidos 297-699 con una señal de secreción de His Tag en el C-terminal y de Ig-kappa en el N-terminal (SEQ ID n.°): 2) se subclonó en el vector de expresión de mamíferos pcDNA3.1 (Invitrogen).

Una secuencia de ADNc truncado de MASP1 humana que codifica el fragmento correspondiente a los aminoácidos 297-686 con una señal de secreción de His Tag en el C-terminal y de Ig-kappa en el N-terminal (SEQ ID n.°): 3) se subclonó en el vector de expresión de mamíferos pcDNA3.1 (Invitrogen).

Los vectores de expresión de MASP1 o MASP2 se transfirieron a la línea celular HEK293 (ATCC N.º CRL-1573) utilizando el reactivo Lipofectamine LTX® (Thermo-Fischer), según lo descrito por el fabricante. La forma madura de las proteasas humanas recombinantes MASP1 y MASP2 se secretaron en el medio de cultivo. Las proteínas MASP1 y MASP2 se purificaron del medio acondicionado mediante cromatografía de afinidad en resina Ni-NTA Superflow (Qiagen), según lo descrito por el fabricante.

2.2 Ensayo bioquímico humano MASP1

La enzima MASP1 humana recombinante producida en las células HEK 293 se diluyó en el tampón de reacción (50 mM HEPES pH 8,0; 100 mM NaCl; 0,01% CHAPS; 0,5 mM Gluthathione) a la concentración de 20 nM y se transfirió 25 µL a cada uno de los pozos de la placa microtiter blanca de 384 pozos (Greiner Bio One 781075). 1 µL de la solución compuesta de inhibidores (disuelta en DMSO, en la concentración correspondiente) o DMSO puro como control se añadió a los mismos pozos. La reacción enzimática se inició con la adición de 25 µL de una solución de 20 µm del sustrato FRET ABZ-

MYGGARRL-Lys (Dnp)-NH2; (ABZ - 2-aminobenzoilo; DNP - 2,4-dinitrofenilo; síntesis personalizada por Jerini Peptide Technologies, Berlín) en el tampón de reacción. La placa microtiter se incubó durante 60-120 min a una temperatura de 32 ºC. El aumento de la intensidad de la fluorescencia se midió en un lector de placas de fluorescencia apropiado (por ejemplo, TECAN Ultra) utilizando una longitud de onda de excitación de 320 nm y una longitud de onda de emisión de 420 nm. Los valores IC50 se calcularon a partir del porcentaje de inhibición de la actividad de la MASP1 humana en función de la concentración del compuesto de ensayo.

2.3 Ensayo bioquímico humano MASP2

La enzima MASP2 humana recombinante producida en las células HEK 293 se diluyó en el tampón de reacción (50 mM HEPES pH 8,0; 100 mM NaCl; 0,01% CHAPS; 0,5 mM Gluthathione) a la concentración de 20 nM y se transfirió 25 µL a cada uno de los pozos de la placa microtiter blanca de 384 pozos (Greiner Bio One 781075). 1 µL de la solución compuesta de inhibidores (disuelta en DMSO, en la concentración correspondiente) o DMSO puro como control se añadió a los mismos pozos. La reacción enzimática se inició con la adición de 25 µL de una solución de 60 µm del sustrato FRET DABCYL-KISPQGYGRR-Glu(EDANS)-NH2; (Dabcil - 4 - ácido (4-dimetilamino)fenil)azo)benzoico; Edans - 5-[(2-Aminoetil) amino]naftaleno-1-sulfonil; síntesis personalizada por Jerini Peptide Technologies, Berlín) en el tampón de reacción. La placa microtiter se incubó durante 60-120 min a una temperatura de 32 ºC. El aumento de la intensidad de la fluorescencia se midió en un lector de placas de fluorescencia apropiado (por ejemplo, TECAN Ultra) utilizando una longitud de onda de excitación de 340 nm y una longitud de onda de emisión de 490 nm. Los valores IC50 se calcularon a partir del porcentaje de inhibición de la actividad de la MASP2 humana en función de la concentración del compuesto de ensayo.

3. Ensayo de deposición C3 (humano, rata, ratón, perro, minicerdo)

El ensayo de deposición de C3 se realizó esencialmente como se describe (referencia). Las placas multipocillos (Greiner-Nunc 384 Maxi Sorp N.° 464718) se recubrieron durante la noche con Mannan de Saccharomyces cerevisiae (Sigma M7504, 10 µg/mL en tampón de carbonato bicarbonato 0,05 M, pH 9,6) a 4 °C. Los pocillos se lavaron tres veces con TBS y posteriormente se incubaron durante 2 horas con 50 µL de albúmina de suero bovino (BSA) al 1% en solución salina tamponada con Tris (TBS) a 37 °C para bloquear la unión no específica. Luego de este paso y cada uno de los siguientes pasos de incubación, los pocillos se lavaron tres veces con tampón de lavado C3 (TBS; 0,05% Tween 20; 5 mM CaCl2). Los pocillos luego se incubaron durante 30 minutos a 37 °C con 50 µl de una mezcla de compuestos de prueba con suero diluido en tampón Veronal (Veronal Puffer (Lonza 12624E). El suero se utilizó en concentraciones que no mostraban deposición detectable de C3 a las placas no recubiertas en las pruebas previas. Se encontró que las diluciones apropiadas estaban en el rango de 1:100 - 1:200 para suero humano, de rata, ratón y perro y 1:20 - 1:100 para suero de minicerdo, respectivamente. En los experimentos típicos, los compuestos se probaron en un rango de concentraciones entre $1x10^{-9}$ y $5x10^{-5}$ mol/L. Después del lavado se detectó la deposición de C3 por incubación con un anticuerpo C3 antihumano de conejo policlonal (Dako (Biozol) A0062) durante 1 hora, seguido de lavado e incubación con una IgG anticonejo conjugada con peroxidasa (Sigma A1949) durante 30 min. a 37 °C y posterior lavado e incubación con una solución de sustrato de TMB en la oscuridad. Cuando se desarrolló apropiadamente, la reacción de color se detuvo por la adición de 25 µL de solución de parada (Sigma S5814) y se cuantificó en un fotómetro midiendo la absorción a una longitud de onda de 450 nm. Los anticuerpos se diluyeron en tampón de lavado C3 suplementado con 0,5% de BSA.

4. Ensayo bioquímico de la rata MASP-1 y MASP-2

4.1 Expresión recombinante y producción de proteínas de las proteasas recombinantes humanas y de rata MASP1 y MASP2 activas.

Una secuencia de ADNc truncado de MASP1 de rata que codifica el fragmento correspondiente a los aminoácidos 302-704 con una señal de secreción de His Tag en el C-terminal y de Ig-kappa en el N-terminal (SEQ ID n.°): 4) se subclonó en el vector de expresión de mamíferos pcDNA3.1 (Invitrogen).

Una secuencia de ADNc truncado de MASP2 de rata que codifica el fragmento correspondiente a los aminoácidos 296-685 con una señal de secreción de His Tag en el C-terminal y de Ig-kappa en el N-terminal (SEQ ID n.°): 5) se subclonó en el vector de expresión de mamíferos pcDNA3.1 (Invitrogen).

Los vectores de expresión de MASP1 o MASP2 se transfirieron a la línea celular HEK293 (ATCC N.º CRL-1573) utilizando el reactivo Lipofectamine LTX® (Thermo-Fischer), según lo descrito por el fabricante. La forma madura de las proteasas de rata recombinantes MASP1 y MASP2 se secretaron en el medio de cultivo. Las proteínas MASP1 y MASP2 se purificaron del medio acondicionado mediante cromatografía de afinidad en resina Ni-NTA Superflow (Qiagen), según lo descrito por el fabricante.

4.2 Ensayo bioquímico de la rata MASP1.

La enzima MASP1 de la rata recombinante producida en las células HEK 293 se diluyó en el tampón de reacción (50 mM HEPES pH 8,0; 100 mM NaCl; 0,01% CHAPS; 0,5 mM Gluthathione) a la concentración de 4 nM y se transfirió 25 µL a cada uno de los pocillos de la placa blanca de microvaloración de 384 pocillos (Greiner Bio One 781075). 1 µL de la solución compuesta de inhibidores (disuelta en DMSO, en la concentración correspondiente) o DMSO puro como control se añadió a los mismos pozos. La reacción enzimática se inició con la adición de 25 µL de una solución de 40 µm del sustrato FRET Dabcil-MYGGARRL-Glu(Edans)-NH2; (Dabcil - 4 - ácido ((4-(dimetilamino)fenil)azo)benzoico; Edans - 5-[(2-Aminoetil) amino]naftaleno-1-sulfonil; síntesis personalizada por Jerini Peptide Technologies, Berlín) en el tampón de reacción. La placa microtiter se incubó durante 60-120 min a una temperatura de 32 ºC. El aumento de la intensidad de la fluorescencia se midió en un lector de placas de fluorescencia apropiado (por ejemplo, TECAN Ultra)

utilizando una longitud de onda de excitación de 340 nm y una longitud de onda de emisión de 490 nm. Los valores IC50 se calcularon a partir del porcentaje de inhibición de la actividad de la MASP2 de rata en función de la concentración del compuesto de ensayo.

4.3 Ensayo bioquímico de la rata MASP2.

La enzima MASP2 de la rata recombinante producida en las células HEK 293 se diluyó en el tampón de reacción (50 mM HEPES pH 8,0; 100 mM NaCl; 0,01% CHAPS; 0,5 mM Gluthathione) a la concentración de 20 nM y se transfirió 25 µL a cada uno de los pocillos de la placa blanca de microvaloración de 384 pocillos (Greiner Bio One 781075). 1 µL de la solución compuesta de inhibidores (disuelta en DMSO, en la concentración correspondiente) o DMSO puro como control se añadió a los mismos pozos. La reacción enzimática se inició con la adición de 25 µL de una solución de 30 µm del sustrato FRET Abz-IEGRTSED-(Lys (Dnp)-NH2; (ABZ - 2-aminobenzoilo; DNP - 2,4-dinitrofenilo; síntesis personalizada por Jerini Peptide Technologies, Berlín) en el tampón de reacción. La placa microtiter se incubó durante 60-120 min a una temperatura de 32 ºC. El aumento de la intensidad de la fluorescencia se midió en un lector de placas de fluorescencia apropiado (por ejemplo, TECAN Ultra) utilizando una longitud de onda de excitación de 320 nm y una longitud de onda de emisión de 420 nm. Los valores IC50 se calcularon a partir del porcentaje de inhibición de la actividad de la MASP2 de rata en función de la concentración del compuesto de ensayo.

Tabla 18: IC50 promedio de los péptidos de referencia

N.° de Referencia	**MASP1 IC50 humano [mol/L]**	**MASP2 IC50 humano [mol/L]**	**DEPOSICIÓN-C3 HUMANA SUERO| IC50 [mol/L]**
1	1,56E-08	1,09 E-06	1,52E-07
2	1,80E-08	6,10E-07	1,85E-07
3	1,80E-08	6,10E-07	5,10E-08

A	7.45E-09	9,14 E-07	3,94 E-08
B	8,00E-09	3,90 E-07	2.82E-08
C	3,60E-09	3,00E-06	2.57E-08

Tabla 19: IC50 promedio de los péptidos de la invención

Ejemplo, N.º	**MASP1 IC50 humano [mol/L]**	**MASP2 IC50 humano [mol/L]**	**DEPOSICIÓN-C3 HUMANA SUERO| IC50 [mol/L]**
4	9,30E-10	6,80E-08	8,11E-09
5	9,60E-10	9,70E-08	1.03E-08
6	1,10E-09	5,00E-08	1,39E-08
7	1,10E-09	2,30E-08	8,71 E-08
8	1,10E-09		1,45E-08
9	1,14E-09	5,00E-08	2,85E-08
10	1,19E-09	3,60E-08	2,75E-08
11	1,20E-09	6,20E-07	3,86E-08
12	1,20E-09	3,70E-08	1,42E-07
13	1,85E-09	1,00E-07	6.62E-09
14	1,30E-09	6,20E-08	1,18E-07
15	1,30E-09	8,70E-08	1,56E-08
16	1,30E-09	2,80E-08	5,01E-09
17	1,33E-09	1,80E-08	3,82E-07
18	1,35E-09	4,00E-08	2,09E-07
19	1,36E-09	1,00E-07	1,24E-07
20	1,40E-09	7,20E-07	3,65E-08
21	1,40E-09	6,20E-08	1,63E-08
22	1,40E-09	5,30E-08	1,39E-08
23	1,40E-09	4,00E-08	6,25E-09
24	1,43E-09	9,80E-08	2,83E-08

25	1,50E-09	1,00E-07	1,28E-08
26	1,50E-09	9,30E-08	1.04E-08
27	1,50E-09	1,40E-07	8.50E-09
28	1,50E-09	5,60E-08	1,31E-08
29	2,45E-09	4,20 E-08	6.99E-09
30	1,53E-09	1,40E-07	3,61E-08
31	1,57E-09	1,77E-08	4,28E-08
32	1,60E-09	1,10E-07	2,93E-08
33	1,60E-09		1,02E-08
34	1,60E-09	4,50E-08	3,92 E-08
35	1,65E-09	1,20E-07	1,57E-07
36	1,65E-09	2,60E-08	4,51E-07
37	1,70E-09	1,20E-07	1,46E-08
38	1,70E-09	8,70E-08	7,26E-08
39	1,70E-09	3,10E-08	1,08E-08
40	1,70E-09	5,90E-08	1,21E-08
41	1,80E-09	4,00E-08	1,21E-08
42	1,80E-09	3,60E-08	1,41E-08
43	1,80E-09	7,60E-08	2,73E-08
44	1,80E-09	7,30E-08	6,85E-08
45	1,83E-09	2,45E-08	1,86E-08
46	1,90E-09	4,30E-07	2,57E-08
47	1,90E-09	1,20E-07	4,34E-08
48	1,95E-09	2,25E-07	1,02E-07
49	2,00E-09	1,10E-07	3,56E-07
50	2,00E-09	7,60E-08	3,19E-08
51	2,00E-09	4,40E-08	3,95E-08
52	2,00E-09	2,40E-08	2,30E-08

53	2,00E-09	8,00E-08	3,03E-08
54	2,00E-09	7,30E-08	8,81E-09
55	2,00E-09	4,20E-08	5,40E-08
56	2,00E-09	1,30E-07	6,97E-09
57	2,00E-09	4,70E-08	1,17E-08
58	2,00E-09	4,20E-08	2,13E-08
59	2,09E-09		2,38E-07
60	2,10E-09	7,20E-08	1,15E-08
61	2,10E-09	9,80E-08	3,94 E-08
62	2,10E-09	9,60E-08	5,91 E-08
63	2,10E-09	1,30E-07	7,91 E-08
64	2,10E-09	2,00E-08	2,98 E-08
65	2,20E-09	9,80E-08	9,82E-08
66	2,20E-09	1,20E-07	3,60E-07
67	2,20E-09	4,30E-08	1,21E-07
68	2,20E-09	7,00E-08	1,40E-08
69	2,20E-09	5,10E-08	1,31E-08
70	2,20E-09	6,50E-08	4,84E-08
71	2,20E-09	6,30E-08	7,11 E-08
72	2,20E-09	4,20E-08	5,98 E-08
73	2,20E-09	3,00E-08	7,04 E-08
74	2,20E-09	5,20E-08	5,20E-08
75	2,23E-09	1,50E-07	3,20 E-08
76	2,30E-09	8,70E-08	1,18E-08
77	2,40E-09	1,50E-07	5,33E-08
78	2,40E-09	1,70E-07	1,46E-08
79	2,40E-09	1,10E-07	2,59E-07
80	2,40E-09	5,70E-08	2,00E-08

81	2,40E-09	6,40E-08	1,62E-08
82	2,40E-09	6,80E-08	1,33E-08
83	2,40E-09	1,10E-07	3,48E-08
84	2,40E-09	1,00E-07	7,00 E-08
85	2,40E-09	5,80E-08	4,82E-08
86	2,45E-09	1,85E-07	1,21E-06
87	2,50E-09	1,90E-07	1,52E-08
88	2,50E-09	1,20E-07	8,08E-08
89	2,50E-09	4,80E-08	4,30E-08
90	2,50E-09	7,00E-08	1,21E-07
91	2,60E-09	1,30E-07	1,12E-08
92	2,60E-09	3,60E-07	3,77E-08
93	2,60E-09	3,00E-08	4,00E-08
94	2,60E-09	4,70E-08	2,98E-08
95	2,60E-09	3,80E-08	1,21E-08
96	2,60E-09	9,20E-08	1,89E-08
97	2,60E-09	1,30E-07	4,84E-08
98	2,60E-09	8,30E-08	1,04E-07
99	2,70E-09	4,90E-07	1,35E-08
100	2,70E-09	3,20E-07	1,09E-08
101	2,70 E-09	2,00 E-07	8,13 E-08
102	2,80E-09	2,80E-06	2,51E-07
103	2,80E-09	2,30E-07	4,30E-07
104	2,80E-09	4,80E-08	3,29E-07
105	2,80E-09	1,50E-07	5,69E-08
106	2,80E-09	1,45E-07	1,21E-08
107	2,80E-09	1,80E-07	1,10 E-07
108	2,80E-09	1,30E-07	1,07E-07

109	2,90E-09	6,96E-08	1,35E-07
110	2,90E-09	2,00E-07	8,24E-08
111	2,90E-09	1,60E-07	4,87E-08
112	2,90E-09	1,30E-07	4,50E-08
113	2,90E-09	8,90E-08	3,89E-08
114	3,00E-09	3,30E-07	1,40E-08
115	3,00E-09	3,00E-08	1,92E-08
116	3,00E-09	4,60E-08	1,54E-08
117	3,00E-09	3,60E-07	6,81E-08
118	3,00E-09	1,40E-07	5,03E-08
119	3,00E-09	2,00E-07	7,81E-08
120	3,10E-09	5,90E-07	3,65E-08
121	3,10E-09	8,30E-08	5,78E-08
122	3,10E-09	1,60E-07	8,44 E-08
123	3,20E-09	9,70E-08	5,55E-09
124	3,20E-09	7,50E-08	1,40E-08
125	3,20E-09	9,30E-08	2,83E-08
126	3,20E-09	2,40E-08	1,49E-08
127	3,20E-09	7,90E-08	3,96E-08
128	3,20E-09	1,60E-06	1,24E-07
129	3,30E-09	1,60E-07	2,76E-08
130	3,30E-09	7,10E-08	5,43E-08
131	3,30E-09	2,00E-07	4,02E-08
132	3,30E-09	1,40E-07	1,07E-07
133	3,30E-09	1,60E-07	1,17E-07
134	3,40E-09	4,10E-07	5,12E-08
135	3,40E-09	9,90E-08	5,12E-08
136	3,40E-09	8,70E-08	5,53E-08

137	3,50E-09	9,80E-08	5,34E-08
138	3,50E-09	1,40E-07	1,14E-07
139	3,50E-09	1,90E-07	6,94E-08
140	3,50E-09	9,00E-08	6,80E-08
141	3,50E-09	2,10E-07	1,83E-07
142	2,13E-09	1,26 E-07	1.24E-08
143	3,60E-09	7,45E-08	4,11E-08
144	3,60E-09	1,30E-07	5,53E-08
145	3,60E-09	6,00E-08	1,01E-07
146	3,60E-09	1,70E-07	9,88E-08
147	3,70E-09	6,80E-08	6,12E-08
148	3,70E-09	5,60E-08	5,00E-08
149	3,70E-09	5,90E-07	7,80E-08
150	3,70E-09	9,70E-08	7,41E-08
151	3,70E-09	1,00E-07	3,00E-08
152	3,75E-09	1,95E-07	4,23E-08
153	4,65E-09	3,16 E-07	2.05E-08
154	3,80E-09	1,40E-07	2,24E-07
155	3,80E-09	2,10E-07	2,24E-08
156	3,80E-09	4,40E-08	2,73E-08
157	3,80E-09	6,30E-08	1,57E-06
158	3,90E-09	9,30 E-07	1,21E-08
159	3,90E-09	1,70E-07	2,10E-08
160	3,90E-09	1,00E-07	6,39E-08
161	3,90E-09	1,70E-07	7,56E-08
162	3,90E-09	1,60E-07	8,22E-08
163	4,00E-09	6,40E-08	1,77E-08
164	4,00E-09	5,70E-08	8,16E-08

165	4,05E-09	1,50E-07	3,60E-08
166	4,20E-09	1,30E-07	3,34E-08
167	4,20E-09	2,30E-07	7,05E-08
168	4,20E-09	1,20E-07	4,75E-08
169	4,25E-09	5,20E-08	8,68E-07
170	4,30E-09	6,80E-08	1,33E-08
171	4,30E-09	3,00E-08	1,95E-08
172	4,30E-09	5,90E-08	3,59E-08
173	4,30E-09	2,00E-07	1,03E-07
174	4,35E-09	6,55E-08	2,80E-07
175	4,40E-09	1,30E-07	1,31E-08
176	4,40E-09	2,40E-07	1,37E-08
177	4,40E-09	8,50E-07	2,75E-08
178	4,40E-09	6,80E-08	4,68E-08
179	4,40E-09	1,70E-07	8,65E-08
180	4,40E-09	1,80E-07	1,11E-08
181	4,50E-09	1,70E-07	1,35E-05
182	4,50E-09	6,80E-08	1,25E-07
183	4,70E-09	1,10E-06	4,07E-08
184	4,70E-09	2,00E-07	4,30E-08
185	4,80E-09	2,45E-07	6,74E-09
186	4,80E-09	1,70E-07	1,16E-08
187	4,90E-09	8,10E-09	1,65E-08
188	4,90E-09	5,50E-07	9,66E-08
189	4,90E-09	1,40E-07	9,90E-08
190	4,90E-09	2,00E-07	2,81E-07
191	5,00E-09	2,00E-07	9,12E-08
192	5,00E-09	1,50E-07	1,15E-07

193	5,00E-09	1,40E-07	4,15E-08
194	5,10E-09	1,00E-07	8,29E-08
195	5,10E-09	8,10E-08	2,27E-08
196	5,10E-09	1,80E-07	9,68E-08
197	5,10E-09	1,70E-08	6,34E-08
198	5,20E-09	2,50E-07	3,89E-08
199	5,20E-09	1,90E-08	4,36E-08
200	5,20E-09	1,90E-07	5,26E-08
201	5,30E-09	1,00E-07	1,56E-07
202	5,30E-09	1,30E-07	1,10E-07
203	5,40E-09	1,70E-07	1,53E-07
204	5,40E-09	1,60E-08	2,17E-08
205	5,50E-09	1,40E-05	2,51E-08
206	5,70E-09	4,40E-08	3,34E-08
207	5,70E-09	7,40E-08	2,89E-07
208	5,70E-09	1,50E-08	1,39E-08
209	5,80E-09	5,10E-08	1,48E-08
210	5,80E-09	6,10E-08	2,29E-08
211	5,80E-09	7,30E-08	3,55E-08
212	6,00E-09	7,40E-07	1.43E-08
213	6,10E-09	1,70E-07	5,82E-08
214	6,10E-09	2,70E-08	2,24E-08
215	6,20E-09	1,80E-07	1,27E-07
216	6,30E-09	2,20E-07	2,51E-08
217	6,30E-09	1,30E-07	6,43E-08
218	6,40E-09	6,50E-08	2,86E-08
219	6,40E-09	1,60E-08	2,89 E-08
220	6,50E-09	4,10E-07	1,48E-07

221	6,50E-09	1,30E-08	1,67E-08
222	6,50E-09	1,40E-07	7,36E-08
223	6,60E-09	1,20E-07	2,70E-07
224	6,90E-09	4,00E-07	1,55E-08
225	6,90E-09	4,90E-08	6,88E-08
226	7,00E-09	8,50E-09	3,03E-08
227	7,00E-09	1,00E-07	1,20E-07
228	7,10E-09	4,20E-06	3,10E-08
229	7,10E-09	2,00E-07	2,97E-08
230	7,20E-09	3,00E-07	4,31E-07
231	7,20E-09	1,90E-07	9,22E-09
232	7,30E-09	1,70E-06	1,25E-07
233	7,30E-09	1,90E-08	1,48E-08
234	7,40E-09	2,60E-07	9,46E-09
235	7,60E-09	6,30E-08	4,91E-08
236	7,80E-09	1,90E-07	2,72E-08
237	9,30 E-09	6,40 E-08	1,47 E-08
238	8,10E-09	1,30E-07	1,25E-07
239	8,10E-09	3,50E-08	5,19E-08
240	8,10E-09	5,60E-08	2,99E-08
241	8,20E-09	7,25E-08	2,20E-08
242	8,20E-09		1,98E-08
243	8,30E-09	1,20E-07	3,36E-08
244	8,45E-09	2,95E-07	1,74E-07
245	8,50E-09	3,30E-08	2,08E-08
246	8,80E-09	2,60E-06	2,17E-07
247	8,90E-09	9,20E-08	2,67E-08
248	8,90E-09	3,00E-07	2,71E-08

249	1,40E-09	3,70E-08	
250	9,30E-09	2,60E-07	2,53E-08
251	9,30E-09		1,66E-08
252	9,40E-09	4,80E-07	6,48E-08
253	9,50E-09	4,40E-07	7,70E-08
254	9,80E-09	7,35E-08	1,53E-08
255	9,90E-09	1,60E-08	2,82E-08
256	1,00E-08	6,20E-07	1,94E-07
257	1,00E-08	1,10E-07	2,48E-08
258	1,00E-08	4,00E-07	1,40E-08
259	1,00E-08	3,20E-08	7,83E-08
260	1,01E-08	2,70E-06	5,63E-08
261	1,10E-08	1,50E-06	1,62E-07
262	1,10E-08	1,70E-07	3,55E-08
263	1,10E-08	2,10E-07	6,34E-08
264	1,10E-09	3,50E-08	7,17E-09
265	1,10E-08	1,20E-06	3,20E-06
266	1,10E-08	3,80E-08	2,18E-08
267	1,10E-08	5,70E-08	8,29E-08
268	1,20E-08	3,70E-07	1,62E-07
269	1,20E-08	1,70E-08	2,23E-08
270	1,20E-08	2,90E-07	1,35E-07
271	1,30E-08	5,00E-07	3.48E-08
272	1,30E-08	2,90E-08	2,96E-08
273	1,30E-08	4,70E-09	1,82E-08
274	1,30E-08	5,50E-08	1,79E-07
275	1,40E-08	1,10E-06	4,71E-08
276	1,40E-08	1,30E-06	3,38E-06

277	1,40E-08	1,70E-07	2,45E-07
278	1,40E-08	3,30E-07	2,16E-08
279	1,40E-08	1,10E-06	3,44E-08
280	1,40E-08	6,10E-08	8,78E-08
281	1,50E-08	5,35E-07	4.47E-08
282	1,50E-08	8,91E-07	1,59E-07
283	1,50E-08	4,20E-08	6,98E-08
284	1,50E-08	9,30E-09	1,86E-08
285	1,50E-08	2,60E-08	2,64E-07
286	1,60E-08	1,60E-07	4,29E-06
287	1,60E-08	4,90E-07	2,70E-07
288	1,60E-08	6,50E-06	6,96E-07
289	1,60E-08	1,60E-07	4,11E-07
290	1,60E-08	2,50E-08	2,54E-08
291	1,60E-08	8,10E-08	3,29E-08
292	1,60E-08	9,30E-07	1,30E-08
293	1,70E-08	6,03E-07	3,87E-07
294	1,70E-08	4,90E-09	4,19E-08
295	1,70E-08	1,10E-08	6,37E-08
296	1,70E-08	1,20E-08	1,26E-08
297	1,80E-08	5,00E-07	1,20E-07
298	1,80E-08	4,20E-08	2,32E-08
299	1,80E-08	9,10E-07	7,36E-07
300	1,80E-08	4,50E-08	5,98E-08
301	1,80E-08	1,90E-08	1,46E-07
302	1,90E-08	1,40E-06	7,96E-08
303	1,90E-08	5,00E-07	1,67E-07
304	1,90E-08	2,70E-08	1,84E-08

305	1,90E-08	9,40E-09	7,34E-08
306	2,00E-08	4,50E-07	3,17E-07
307	2,00E-08	4,30E-08	2,65E-08
308	2,00E-08	5,00E-09	1,68E-08
309	2,00E-08	1,20E-08	2,06E-08
310	2,00E-08	3,00E-06	2,26E-07
311	2,00E-08	4,90E-08	1,94E-08
312	2,10E-08	5,30E-07	2,45E-06
313	2,10E-08	2,50E-07	3,16E-07
314	2,10E-08	2,60E-07	2,09E-07
315	2,10E-08	4,50E-09	2,27E-08
316	2,10E-08	6,60E-07	2,00E-07
317	2,20E-08	2,10E-07	3,86E-07
318	2,20E-08	6,10E-07	3,47E-07
319	2,20E-08	1,80E-08	2,13E-08
320	2,20E-08	1,90E-07	6,43E-08
321	2,20E-08	1,80E-06	2,74E-07
322	2,20E-08	1,50E-07	1,13E-07
323	6,96E-09	5,60E-07	2.32E-08
324	2,30E-08	7,20E-08	3,51E-07
325	2,30E-08	4,50E-07	1,19E-06
326	2,30E-08	7,10E-07	2,15E-08
327	2,30E-08	2,50E-08	1,94E-08
328	2,30E-08	1,30E-08	3,16E-08
329	2,40E-08	2,60E-07	6,86E-06
330	2,40E-08	1,30E-07	3,30E-08
331	2,40E-08	6,10E-07	1,81E-07
332	2,50E-08	2,30E-08	2,43E-08

333	2,50E-08	8,40E-09	1,40E-08
334	2,50E-08	5,50E-09	7,97E-09
335	2,50E-08	1,80E-07	5,66E-08
336	2,50E-08	6,90E-07	2,72E-07
337	2,50E-08	2,00E-06	2,51E-05
338	2,60E-08	3,60E-07	3,35E-07
339	2,60E-08	6,40E-07	4,73E-07
340	2,60E-08	3,00E-07	8,69E-07
341	2,60E-08	4,30E-07	2,89E-07
342	2,60E-08	1,70E-08	4,06E-08
343	2,70E-08	1,20E-08	1,60E-08
344	2,70E-08	5,10E-08	4,43E-08
345	2,70E-08	3,90E-07	1,93E-07
346	2,70E-08	1,90E-07	6,84E-08
347	2,75E-08	8,55E-07	1,51E-07
348	2,80E-08	6,90E-07	4,91E-06
349	9.60E-09	4.20E-07	7.06E-08
350	2,80E-08	3,70E-07	1,68E-07
351	2,80E-08	1,20E-08	7,74E-09
352	2,80E-08	7,10E-08	2,85E-07
353	2,80E-08	5,00E-08	4,47E-07
354	2,90E-08	5,10E-07	5,94E-07
355	2,90E-08	9,30E-07	1,62E-07
356	2,90E-08	1,60E-08	2,88E-08
357	3,10E-08	1,30E-06	1,15E-05
358	3,10E-08	1,90E-08	4,38E-08
359	3,10E-08	3,40E-08	3,26E-08
360	3,10E-08	5,50E-08	9,13E-08

361	3,20E-08	1,00E-06	2,30E-07
362	3,30E-08	6,50E-08	3,94E-08
363	3,30E-08	1,20E-07	1,30E-07
364	3,30E-08	9,80E-08	2,28E-08
365	3,40E-08	1,04E-08	4,57E-08
366	3,40E-08	9,00E-09	4,71E-09
367	3,50E-08	6,00E-07	1,31E-06
368	3,50E-08	1,20E-06	5,58E-07
369	3,50E-08	4,20E-07	6,06E-08
370	3,50E-08	9,35E-08	1,30E-08
371	3,60E-08	8,10E-07	3,15E-07
372	3,60E-08	6,60E-07	4,55E-07
373	3,70E-08	4,50E-07	5,24E-07
374	3,70E-08	1,40E-05	6,70E-05
375	3,70E-08	9,60E-09	1,13E-07
376	1,10E-09	3,50E-08	1,38E-08
377	3,70E-08	8,10E-07	2,67E-07
378	3,80E-08	1,10E-06	3,10E-07
379	3,90E-08	3,60E-07	1,92E-07
380	4,00E-08	8,10E-07	9,47E-07
381	4,00E-08	5,50E-07	5,47E-08
382	4,00E-08	4,10E-08	1,27E-07
383	4,00E-08	8,00E-07	1,53E-05
384	4,20E-08	2,60E-07	8,12E-07
385	4,25E-08	8,95E-09	5,64E-08
386	4,30E-08	7,50E-07	3,05E-07
387	4,40E-08	2,20E-06	8,76E-08
388	4,50E-08	7,50E-07	4,33E-07

389	4,60E-08	3,30E-07	6,03E-08
390	4,70E-08	1,30E-06	1,15E-06
391	4,70E-08	9,50E-09	2,57E-08
392	4,70E-08	8,00E-08	6,24E-08
393	4,90E-08	3,80E-06	5,45E-07
394	5,20E-08		1,12 E-07
395	5,20E-08	1,20E-08	4,59E-08
396	5,30E-08	2,80E-08	2,55E-08
397	5,40E-08	3,80E-06	7,20E-07
398	5,40E-08	2,20E-08	1,92E-08
399	5,50E-08	5,20E-07	3,42E-07
400	5,50E-08	9,00E-09	5,26E-08
401	5,60E-08		4,48E-07
402	5,80E-08	2,10E-06	2,55E-05
403	5,90E-08	7,40E-07	6,59E-07
404	6,20E-08	1,70E-08	3,51E-08
405	6,30E-08	9,80E-07	8,69E-08
406	6,40E-08	1,30E-08	6,13E-08
407	6,40E-08	1,20E-08	1,54E-08
408	6,90E-08	3,20E-08	2,86E-07
409	7,10E-08	5,70E-07	1,53E-05
410	7,60E-08	2,70E-06	4,32E-06
411	7,60E-08	2,50E-06	2,84E-07
412	7,70E-08	5,00E-06	1,83E-07
413	7,80E-08	2,00E-06	1,05E-05
414	8,60E-08	4,00E-06	2,38E-05
415	8,60E-08	2,00E-08	1,86E-08
416	8,70E-08	1,90E-07	4,14E-05

417	8,90E-08	1,70E-05	2,07E-07
418	1,80E-09	1,30E-07	5,39E-08
419	5,10E-09	1,00E-07	8,29E-08
421	5,00E-09	9,80E-09	5,22E-08
422	8,10E-09	1,20E-08	5,91E-08
423	5,70E-09	1,20E-08	4,77E-08
424	6,60E-09	1,10E-08	5,26E-08
425	7,70E-09	1,30E-08	4,78E-08
426	9,10E-09	1,50E-08	4,60E-08
427	1,00E-08	1,50E-08	6,39E-08
428	3,70E-09	3,20E-07	6,03E-08
429	6,90E-09	1,20E-08	4,72E-08
430	1,40E-09	9,10E-08	4,05E-08
431	2,00E-09	1,70E-07	8,64E-08
432	2,70E-09	3,70E-07	1,73E-07
433	1,70E-09	1,20E-07	8,02E-08
434	1,00 E-06	1,00 E-06	
435	9,20E-09	1,70E-08	5,82E-08
436	2,30E-09	4,40E-08	5,19E-08
437	2,20E-09	7,60E-08	5,61E-08
438	2,90E-09	8,30E-08	5,08E-08
439	3,20E-09	1,50E-08	2,84E-08
440	1,80E-08	2,60E-08	2,15E-07
441	6,50E-08	2,20E-07	2,53E-07
443	7,80E-10	7,40E-08	2,52E-08
444	2,80E-09	6,10E-08	2,95E-08
445	3,00E-09	3,00E-07	4,99E-08
446	2,70 E-09	7,20 E-08	

447	4,70 E-09	6,55 E-08	
448	4,40E-07	1,00E-06	3.45E-06
449	1,80E-09	9,30E-08	5.58E-08
450	5,80E-09	2,30E-07	7.34E-08
451	2,60E-09	6,10E-08	5.69E-08
452	2,00E-09	1,00E-07	3.78E-08
453	2,50E-09	5,60E-08	5.98E-08
454	2,00E-09	9,90E-08	6.57E-08
455	2,90E-09	8,50E-08	
456	1,90E-09	1,10E-07	5.55E-08
457	1,70E-08	4,50E-08	5.06E-08
458	5,10E-09	2,10E-07	1.07E-07
459	4,30 E-09	2,00 E-07	1.04E-07
460	8,20 E-09	1,40 E-07	6.20E-08
462	1,20 E-08	1,30 E-07	6.10E-08
463	3,80 E-09	2,60 E-07	6.39E-08
464	1,00 E-09	4,50 E-08	7.76E-08
465	4,10 E-10	1,20 E-07	9.94E-08
466	7,20 E-10	4,00 E-08	7.16E-08
467	6,60 E-09	5,50 E-08	4.15E-08
468	4,50 E-09	9,70 E-08	5.77E-08
469	1,90 E-09	1,10 E-07	4,00E-08
470	1,80 E-09	5,80 E-08	4.12E-08
471	2,60 E-09	8,20 E-08	4.49E-08
472	4,00 E-09	5,10 E-08	4.39E-08
474	2.40E-09	7.80E-08	
475	2,60E-08	1,80E-08	
476	3,80E-09	6.10E-08	

477	9.60E-09	1.72E-07	
478	3,70E-09	3,70E-08	
479	5.85E-09	1.75E-07	
480	3,00E-09	3,50E-08	
481	2.50E-09	5.50E-08	
482	2,80E-09	2.50E-08	
483	5.40E-09	6.40E-08	
484	5.50E-09	1.20E-07	
485	2.10E-09	3,50E-08	
486	3,80E-09	3,20E-08	
487	2.35E-09	4.80E-08	
488	5.20E-09	1,10E-07	
489	2.40E-09	3,20E-08	
490	1.95E-08	2.10E-08	4.64E-08
491	5.80E-08	4.30E-08	
492	3,00E-09	1,80E-07	
493	3,20E-09	1.20E-07	
494	2,60E-09	8.40E-08	
495	3,40E-09	3,70E-08	
496	2.00E-09	3,10E-08	
497	2.30E-09	4.70E-08	
498	2.30E-09	3,90E-08	
500	7.70E-09	1.50E-07	
501	4.80E-09	5.90E-08	
502	6.50E-09	1,10E-07	
503	6.30E-09	6.20E-08	
504	6.80E-09	1.20E-07	
505	7.90E-09	7.60E-08	

506	6.20E-09	7.60E-08	
507	1,70E-09	2,70E-08	
508	1.40E-08	3,30E-07	
509	6.50E-08	7.00E-08	
510	7.00E-08	1,70E-07	
511	5.26E-07	1.00E-06	
512	1.00E-06	1.00E-06	
513	7.40E-07	1.00E-06	
514	5.30E-09	4.60E-08	
515	7.00E-09	1.50E-07	
516	7.50E-09	1.00E-06	
517	3,10E-09	5.10E-07	
518	1.00E-06	1.00E-06	
519	1,80E-08	4.70E-08	
520	2.10E-08	6.40E-08	
521	1,70E-08	2.00E-08	
522	4.40E-09	2.20E-08	
523	4.40E-09	2.40E-08	
524	7.80E-09	1.00E-06	
525	2.00E-08	2.30E-07	
526	6.60E-09	1.04E-07	4.85E-08
527	2.30E-08	9.60E-08	1.54E-08
528	7.50E-09	6.50E-08	2.03E-08
529	3,10E-09	5.40E-08	3.95E-08
530	6,78 E-09	1,16 E-07	2,14 E-08
531	1,71 E-08	2,61 E-07	3.41E-08
532	2,80 E-08	1,66 E-07	2.03E-08

Tabla 20: IC50 promedio de los péptidos de referencia

N.° de Referencia	MASP1 IC50 de rata [mol/L]	MASP2 IC50 de rata [mol/L]	DEPOSICIÓN-C3 DE RATA SUERO| IC50 [mol/L]
1	6,86 E-08	6,80 E-08	1,70E-06
3			1.14E-06
A	5,02 E-08	6,84 E-08	1.41E-06
B	8,34 E-08	5,42 E-08	6.49E-07
C	2,10 E-07		5.79E-07

Tabla 21: IC50 promedio de los péptidos de la invención

Ejemplo, N.º	MASP1 IC50 de rata [mol/L]	MASP2 IC50 de rata [mol/L]	DEPOSICIÓN-C3 DE RATA SUERO| IC50 [mol/L]
5	2,80 E-08	4,90 E-08	2.14E-07
7	3,00E-08	1.60E-08	
12	1.30E-08		
13	9,32 E-09	1,64 E-08	2.42E-07
14	2.30E-08		
17	3,10E-08		
18	2,60E-08		
19	2.30E-08		
20	1.30E-08		
21	6.70E-08	4,00E-08	
26	5.50E-08	5.34E-08	1.50E-07
27	9,81 E-09	9,10 E-09	1.46E-07
29	1,05 E-08	1,74 E-08	1.96E-07
30	2,80E-08		
31	2.20E-08		
32	5.60E-08	4.80E-08	

35	4.60E-08		
36	2.40E-08		
37	1.40E-07		
38	1.20E-08		
39	4.90E-08	3,70E-08	
41	2,80E-08	1.30E-08	
44	8.70E-08	3,50E-08	
45	4,00E-08		
48	5.15E-08		
49	6.00E-08		
54	1.60E-07	4.80E-08	
55	6.50E-08	2,70E-08	
59	2.50E-07		
62	5.50E-08	5.00E-08	
65	7.20E-09		
66	7.00E-08		
67	7.20E-08	3,60E-08	
72	4.30E-08	2,70E-08	
73	4.30E-08	2,80E-08	
74	7.10E-08	2,80E-08	
75	3,50E-08	3.49E-08	1.83E-07
77	6.60E-08		
78	4.80E-08		
79	8.50E-08		
83	1.20E-07	4.80E-08	
85	7.50E-08	3,70E-08	
86	1.60E-08		
88	3,60E-08	6.80E-08	

90	6.70E-08	5.50E-08	
97	1.20E-07	5.10E-08	
98	1,70E-08		
99	2.20E-07		
101	7.60E-08	5.00E-08	
102	1.40E-07		
103	1,10E-07		
104	7.70E-08		
108	1,10E-08		
109	7.60E-08	4.20E-08	
119	1.30E-07	7.00E-08	
123	5.90E-08		
126	1,10E-08	1.00E-08	
128	3,50E-08		
133	9.80E-08	6.70E-08	
140	1.00E-07	5.00E-08	
141	1.40E-07	9.50E-08	
142	1,09 E-08	1,71 E-08	4.72E-07
146	1,10E-07	6.80E-08	
150	1.20E-07	5.30E-08	
153	4,00 E-08	5,03 E-08	8.00E-07
154	7.20E-08		
156	2.10E-08	1.60E-08	
158	2.47E-07	4.20E-07	
164	7.90E-08	2,80E-08	
168	1.40E-07	5.30E-08	
169	3,70E-07		
170	5.40E-08	9,82 E-09	2.36E-07

171	4.20E-08	2.10E-08	
174	6.56E-08	3.51E-08	
175	2,80E-08		
180	4.20E-08		
181	1.30E-07		
182	1.30E-08		
185	5.70E-08	1,09 E-08	2.36E-07
186	3,80E-07		
187	7.70E-08	3,70E-09	
194	7,00 E-08	4,20 E-08	
197	1.00E-07	1.50E-08	
199	1,80E-07	4.90E-08	
205	3,00E-07		
207	4.30E-08	3.36E-08	
208	6.10E-08	8.60E-09	
209	3,30E-07		
210	1,90E-08		
211	7.50E-08	2.30E-08	
212	2,46 E-08	3,45 E-08	2.31E-07
216	2.40E-07		
222	2.40E-07		
223	1.20E-07		
224	6,04 E-08	4,24 E-08	7.83E-07
225	2.30E-07		
226	2,90E-08	2,90E-09	
228	2,60E-07		
230	3,70E-07		
231	3,80E-08		

232	6.73E-08	1.25E-07	
234	7.80E-08		
235	3,80E-07	2,90E-08	
236	8.90E-07		
237	1,00 E-06	1,00 E-06	
238	1.50E-07		
241	1.30E-07		
243	1.40E-07		
246	7.80E-08		
247	7.00E-07		
248	2,60E-07		
250	7.70E-08		
253	1.30E-07		
254	3,20E-07		
259	2,70E-08		
260	1.60E-07		
261	3,00E-07		
262	4.90E-07		
267	1.30E-07	4.20E-08	
268	1.00E-07		
269	1.20E-07	9.60E-09	
270	1,70E-07		
271	8,87 E-08	5,52 E-08	1.06E-06
274	8.90E-08		
275	1.50E-07		
276	2.00E-07		
277	1,90E-07		
278	8.30E-08		

281	2,70E-07	3.08E-07	1.41E-06
282	4.70E-07		
284	6.00E-08	9.70E-09	
286	2.30E-07		
287	2.50E-07		
289	1,80E-07		
294	9.70E-08	9.60E-09	
305	7.60E-08	5.30E-09	
313	2.20E-07		
323	5,18 E-08	6,01 E-08	1.14E-06
343	1.40E-07	1,90E-08	
347	1,00 E-06	1,00 E-06	
348	3,50E-07		
360	1.20E-07	7.30E-08	
367	1.20E-07		
370	2.35E-07	1,70E-07	
381	6.00E-07	4.70E-07	
400	4.50E-08	1,10E-08	
405	6.50E-07	5.10E-07	
419	7.00E-08	4.20E-08	
436	3,90E-08	3,10E-08	
437	4.60E-08	4,00E-08	
438	3,10E-08	2.20E-08	
439	3,60E-08	9.40E-09	
440	6.10E-07	1.40E-08	
441	4,10E-07	1.20E-07	
443	2,90E-08	4.70E-09	
444	1.30E-07	9.80E-09	

445	1.50E-07	9.40E-08	
447	2,10 E-08	3,50 E-08	
448	5.00E-06	5.00E-06	
449	4.50E-08	4.45E-08	
450	3,10E-08	5.20E-08	
451	4.60E-08	4.60E-08	
452	3,60E-08	3,70E-08	
453	3,80E-08	3,20E-08	
454	1.27E-07	7.90E-08	
455	4,10E-08	3,20E-08	
456	3,90E-08	3,00E-08	
457	2.00E-08	5.00E-09	2.34E-07
458	2.50E-07	1.00E-07	
459	1,80E-07	5.10E-08	
460	2.10E-07	6.90E-08	
462	1.60E-07	1.50E-07	
463	1,90E-07	1.00E-07	
464	9.40E-08	1.20E-07	
465	7.20E-08	1.40E-07	
466	1.76E-08	7.20E-08	
467	1,70E-07	7.00E-08	
468	1.30E-07	8.00E-08	
469	1.20E-07	3,40E-08	
470	1.00E-07	5.40E-08	
471	7.80E-08	7.10E-08	
472	1.00E-07	4.90E-08	
474	8.70E-08	2,60E-08	
475	2.50E-07	2.50E-08	

476	5.30E-08	6.10E-08	
477	1.54E-07	1.23E-07	
478	6.80E-08	4.90E-08	
479	8.40E-08	4.50E-08	
480	2.40E-08	4,10E-08	
481	2.00E-08	3,60E-08	
482	1,80E-08	3,30E-08	
483	3,40E-08	5.00E-08	
484	6.30E-08	8.80E-08	
485	3,60E-08	3,20E-08	
486	6.90E-08	6.80E-08	
487	6.70E-08	3,80E-08	
488	4,10E-08	3,60E-08	
489	4.20E-08	2.20E-08	
490	1.25E-08	1.50E-08	3.66E-07
491	2.00E-08	2.30E-08	
492	6.50E-08	8.10E-08	
493	4.40E-08	4.90E-08	
494	3,80E-08	6.20E-08	
495	4.50E-08	6.60E-08	
496	3,10E-08	3,10E-08	
497	5.80E-08	3,90E-08	
498	4.40E-08	4.20E-08	
526	4.85E-07	2.53E-07	
527	2.40E-07	4.20E-08	
528	4.20E-07	8.20E-09	
529	7.30E-07	1.00E-07	
530	2,33 E-08	1,84 E-08	2.82E-07

531	2,60 E-08	7,41 E-08	
532	2,42 E-08	1,76 E-08	

4. Lesión renal por isquemia-reperfusión (IRI) en ratas después de una nefrectomía unilateral

Todos los procedimientos cumplieron con la legislación nacional (dt. Tierschutzgesetz) y las directivas de la UE para el uso de animales con fines científicos y fueron aprobados por la oficina institucional de atención a los animales de Bayer AG y por la autoridad regional competente (LANUV Recklinghausen). La dieta estándar de laboratorio y el agua del grifo estaban disponibles *ad libitum*. En un experimento típico, el número de animales utilizados fue de n = 6 a 12. Los animales se asignaron de forma aleatoria a los grupos experimentales. La lesión renal por isquemia-reperfusión (IRI) se realizó en ratas macho Wistar nefrectomizadas unilateralmente de un peso corporal preferido en el rango de 250 a 350 g. Para la nefrectomía unilateral las ratas se mantuvieron anestesiadas bajo la inhalación de un 2% de isoflurano en el aire. La analgesia se proporcionó como una inyección subcutánea de 400 µL/kg de una mezcla de 25% de Ketavet y 8% de Rompun en 0,9 NaCl. La nefrectomía unilateral se realizó después de que sobresaliera el riñón derecho a través de una pequeña incisión en la pared abdominal dorsolateral y la ligadura de su pedúnculo. Después de la nefrectomía unilateral la incisión abdominal se cerró con suturas quirúrgicas en capas y se les permitió a los animales recuperarse durante 7 u 8 días antes de la IRI. La IRI se realizó bajo anestesia y analgesia conforme se describe arriba. El riñón izquierdo remanente se protruyó a través de una pequeña incisión de la pared abdominal y los vasos sanguíneos del pedúnculo renal se sujetaron con una pinza microvascular atraumática durante 45 minutos en un escenario típico. Durante este tiempo, el riñón, junto con la pinza in situ se reposicionó en la cavidad abdominal para asegurar una isquemia caliente. Después de 45 minutos se abrió y se retiró la pinza y se cerró la incisión

con suturas conforme se describe arriba. El compuesto o vehículo de prueba se administró por vía intravenosa a través de un catéter de polietileno que se colocó antes de la cirugía en la vena yugular.

Los compuestos se disolvieron en el vehículo apropiado y se administraron ya sea de manera preventiva antes de la IRI o de manera terapéutica después de la finalización de la IRI. El rango típico de dosis aplicado fue de 0,1 a 30 mg/kg por vía intravenosa. El vehículo se administró sin el compuesto a los animales que sirvieron de control. Los animales de control se sometieron a todo el procedimiento que se describió anteriormente sin cerrar la pinza para la inducción de la isquemia.

Se tomaron muestras de sangre bajo anestesia en el día 1 y 8 después de la IRI. En un escenario típico, los animales se sacrificaron 8 días después de la IRI y se tomaron muestra de los riñones y se congelaron en nitrógeno líquido. En otro escenario típico, los animales se sacrificaron un día después de la IRI.

Los parámetros típicos de laboratorio medidos en muestras de plasma para evaluar la función renal fueron la creatinina y la urea. Para la determinación de la depuración de la creatinina los animales se mantuvieron en jaulas metabólicas y se recogió la orina durante al menos 16 horas. Luego de la determinación del flujo de volumen de orina (V_U) y la determinación de las concentraciones de creatinina urinaria y plasmática ($[Crea]_U$ y $[Crea]_{Pl}$, respectivamente), se calculó la depuración de creatinina (Cl_{Crea}) de acuerdo con la fórmula estándar: $Cl_{Crea} = V_U * [Crea]_U/[Crea]_{Pl}$

Extracción de ARN y reacción cuantitativa en cadena de la polimerasa en tiempo real: El ARN total se extrajo de muestras de tejido por el método Trizol. La integridad del ARN obtenido se comprobó en un bioanalizador (Agilent). Para la transcripción inversa, se digirió primero 1 µg del ARN total con DNasa I libre de RNasa (Gibco) durante 15 minutos a temperatura ambiente y luego se transcribió en forma inversa utilizando Promiscript (Promega) en un volumen de reacción total de 40 µL según el protocolo estándar del proveedor del kit. Después

de la inactivación de la enzima mediante el calentamiento durante 15 min a 65 °C, el ADNc obtenido se diluyó hasta obtener un volumen final de 150 µL con agua y se eligieron 4 µL por reacción de PCR. La PCR en tiempo real, incluida la normalización de los datos brutos a la beta-actina citosólica como gen de mantenimiento, se realizó de la forma en que se describió (Ellinghaus *et al.*, 2005). La expresión resultante se da en unidades arbitrarias. En la tabla 1 se describen las secuencias de los cebadores y sondas de oligonucleótidos utilizados.

5. Lesión renal por isquemia-reperfusión (IRI) en cerdos luego de la oclusión del balón aórtico

Todos los procedimientos cumplieron con la legislación nacional (dt. Tierschutzgesetz) y las directivas de la UE para el uso de animales con fines científicos y fueron aprobados por la oficina institucional de atención a los animales de Bayer AG y por la autoridad regional competente (LANUV Recklinghausen). Para los experimentos se utilizaron minicerdos hembra de Göttingen (Ellegaard, Dinamarca) de un peso corporal que oscilaba preferentemente entre 12 y 16 kg. Los animales se asignaron de forma aleatoria a los grupos experimentales.

Se aplicaron métodos mínimamente invasivos con las modificaciones descritas (Simon *et al.*, Effects of intravenous sulfide during porcine aortic occlusion-induced kidney ischemia/reperfusion injury. Shock. 2011;35:156-163; Matejkova *et al.*, Carbamylated erythropoietin-FC fusion protein and recombinant human erythropoietin during porcine kidney ischemia/reperfusion injury. Intensive Care Med. 2011;39:497–510). En resumen: Los cerdos se mantenían anestesiados mediante una infusión intravenosa continua de Ketavet®, Dormicum® y Pancuronium® después de una premedicación con una inyección intramuscular de Ketavet®/Stresnil®. Después de la intubación intratraqueal, los animales se ventilaron artificialmente utilizando un respirador pediátrico (Avance CS², GE Healthcare) con una mezcla de aire y oxígeno a un volumen corriente de 6 a 8 mL/kg a una presión final de espiración positiva constante (PEEP) de 3 - 4 cm

H_2O y una frecuencia de 13 a 20 min^{-1}. La ventilación se ajustó para mantener la PaCO2 arterial a aproximadamente 40 mmHg en el período inicial. Se colocó un catéter en la vena yugular derecha para la administración de medicamentos y fluidos. La solución de lactato de Ringer se infundió por vía intravenosa a una tasa constante de 10 mL/kg/h. Los animales recibieron 50 i.E./kg de heparina por vía intravenosa. De forma rutinaria se midieron los siguientes parámetros cardiovasculares y respiratorios después de la colocación de las sondas y catéteres necesarios adaptados a los transductores de presión y equipos de registro apropiados: presión venosa central (a través de la vena yugular izquierda), presión arterial y frecuencia cardíaca (PA y FC; a través de la arteria carótida izquierda) y gasto cardíaco (CO) y resistencia vascular sistémica (SVR) mediante el uso del sistema PiCCO® (Pulsion, Alemania) conectado a un catéter de termodilución Pulsion 4F (PV2014L08N) colocado en la arteria carótida derecha. Los catéteres para la medición de la CVP, BP y HR se conectaron a un sistema de registro Ponemah mediante transductores Combitrans (Braun, REF 5203660). Un catéter de oclusión Fogarty (8F/14F, Edwards Lifesiences, REF 6208014F) se insertó en la aorta abdominal a través de la arteria femoral izquierda, de modo que la punta con el balón inflable se colocó hacia el flujo ascendente de las arterias renales. Se introdujo un catéter en la vejiga urinaria a través de una pequeña incisión abdominal y la orina se recogió continuamente. Se recogieron muestras de sangre arterial a intervalos regulares en las que se determinó la creatinina, la urea, las enzimas hepáticas, las células sanguíneas y las concentraciones de compuestos. Se determinó el pO_2, pCO_2 y el pH arteriales en un analizador de gases sanguíneos Stat Profile® PRIME® (Nova Biomedical) a intervalos regulares en muestras de sangre arterial. La perfusión renal se evaluó a intervalos regulares mediante la determinación por ultrasonido Doppler del índice de resistividad utilizando un aparato de ultrasonido LOGIQ e Veterinary (General Electrics) equipado con un transductor convexo de amplio espectro de 2,0 a 5,0 MHz (C1-5-RS, REF 5384874). El índice de resistividad renal (RRI) es un parámetro adecuado para evaluar la gravedad de la

lesión renal aguda en los pacientes (Darmon *et al.*, Diagnostic accuracy of Doppler renal resistive index for reversibility of acute kidney injury in critical ill patients. Intensive Care Med. 2011;37(1):68-76)

Cuando los parámetros cardiovasculares mostraron una línea de base estable (que normalmente era el caso 60 minutos después de la cirugía) se iniciaron las grabaciones y se recogieron muestras para los parámetros iniciales. Se midieron continuamente la HR y el MABP y para el registro se promedió en intervalos de 2 min. Al final de la experimentación se sacrificaron cerdos por desangrado.

La lesión renal fue inducida al inflar el globo del catéter de balón de Fogarty con solución salina, lo que interrumpió inmediatamente el flujo de sangre a los riñones y los órganos abdominales y provocó un fuerte aumento de la presión sanguínea aórtica flujo ascendente del globo. La interrupción del flujo sanguíneo se confirmó además por el examen de ultrasonido Doppler de los vasos sanguíneos del riñón. En los experimentos típicos, la aorta se mantiene ocluida durante 90 a 120 minutos hasta la reperfusión desinflando el globo. Tras la reperfusión, la tasa de infusión de lactato de Ringer se duplica hasta 20 mL/kg/h para estabilizar la presión sanguínea y permitir la diuresis. Todos los parámetros se monitorearon hasta 6 horas después de la reperfusión.

Los compuestos se disolvieron en el vehículo apropiado y se administraron ya sea de manera preventiva antes de la IRI o de manera terapéutica después de la finalización de la IRI. El rango típico de dosis aplicado fue de 0,1 a 10 mg/kg por vía intravenosa. En un experimento típico se probaron hasta tres dosis en hasta 6 animales por grupo de dosis. El vehículo se administró sin el compuesto a los animales que sirvieron de control. Los animales de control se sometieron a todo el procedimiento que se describió anteriormente sin inducción de la isquemia.

Como medida de la función renal después de la reperfusión, preferentemente, pero no exclusivamente, cambios en la diuresis, se utilizó la creatinina sérica, el

potasio sérico, el bicarbonato sérico y el índice de resistencia determinado por el examen de ultrasonido Doppler.

Tabla 22: Listado de secuencias

SEQ ID	**No**	**Secuencia**
SEQ ID	1	GIC+SRSLPPIC+IPD-OH
SEQ ID	2	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAG- NECPELQPPVHGKIEPSQAK- YFFKDQVLVSCDTGYKVLKDNVE- MDTFQIECLKDGTWSNKIPTCKIVDCRAPGE- LEHGLITFSTRNNLTTYKSEIKYSCQEPYYKMLNNNT- GIYTCSAQGVWMNKVLGRSLPTCLPVCGLPKFSRKLMA- RIFNGRPAQKGTTPWIAM- LSHLNGQPFCGGSLLGSSWIVTAAHCLHQSLD- PEDPTLRDSDLLSPSDFKIILGKHWRLRSDENE- QHLGVKHTTLHPQYDPNTFENDVALVELLESPVLNAFVM- PICLPEGPQQEGAMVIVSGWGKQFLQRFPETLMEIEIPI- VDHSTCQKAYAPLKKKVTRDMICAGEKEGGKDACAG- DSGGPMVTLN- RERGQWYLVGTVSWGDDCGKKDRYGVYSYIHHNKDWIQ RVTGVRNHHHHHH
SEQ ID	3	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAQPCPYPMAP- PNGHVSPVQAKYILKDSFSI- FCETGYELLQGHLPLKSFTAVCQKDGSWDRPMPACSI- VDCGPPDDLPSGRVEYITGPGVTTYKAVIQYS- CEETFYTMKVNDGKYVCEADGFWTSSKGEKSLPVCEPVC GLSARTTGGRIYGGQKAKPGDFPWQVLILGGT- TAAGALLYDNWVLTAAHAVYEQKHDASAL- DIRMGTLKRLSPHYTQAWSEAVFIHEGYTHDAGFDNDIA- LIKLNNKVVINSNITPICLPRKEAESFMRTDDIGTAS-

		GWGLTQRGFLARNLMYVDIPI- VDHQKCTAAYEKPPYPRGSVTANMLCAGLESGGKDS- CRGDSGGALVFLDSETERWFVGGIVSWGSMNC- GEAGQYGVYTKVINYIPWIENIISDFHHHHHH
SEQ ID	4	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDAG- NECPKLQPPVYGKIEPSQAVYSFKDQVLISCDTGYKVLKD NEVMDTFQIECLKDGAWSNKIPTCKIVDCGVPA- VLKHGLVTFSTRNNLTTYKSEIRYSCQQPYYKMLHNTT- GVYTCSAHGTWTNEVLKRSLPTCLPVCGLPKFSRKHIS- RIFNGRPAQKGTTPWIAM- LSQLNGQPFCGGSLLGSNWVLTAAHCLHHPLDPEE- PILHNSHLLSPSDFKIIMGKHWRRRSDEDEQHLHVKHIM- LHPLYNPSTFENDLGLVELSESPRLNDFVMPVCLPEHPS- TEGTMVIVSGWGKQFLQRLPENLMEIEIPIVNYHTCQEAY- TPLGKKVTQDMICAGEKEGGKDACAGDSGGPMVTKDA- ERDQWYLVGVVSWGEDCGKKDRYGVYSYIYPNKDWIQR VTGVRNHHHHHH
SEQ ID	5	METDTLLLWVLLLWVPGSTGDTAQPCPDPTAPPNGHIS- PVQATYVLKDSFSVFCKTGFE- LLQGSVPLKSFTAVCQKDGSWDRPIPECSIIDCGPP- DDLPNGHVDYITGPEVTTYKAVIQYSCEETFYTMSSNG- KYVCEADGFWTSSKGEKSLPVCKPVCGLST- HTSGGRIIGGQPAKPGDFPWQVLLLGETTAAGA- LIHDDWVLTAAHAVYGKTEAMSSLDIRMGILKRLS- LIYTQAWPEAVFIHEGYTHGAGFDNDIALIKLKNKVTINR- NIMPICLPRKEAASLMKTDFVGTVAG- WGLTQKGFLARNLMFVDIPIVDHQKCATAY- TKQPYPGAKVTVNMLCAGLDRGGKDSCRGDSGGAL- VFLDNETQRWFVGGIVSWGSINCGG-

		SEQYGVYTKVTNYIPWIENIINNFHHHHHH
SEQ ID	6	ABZ-MYGGARRL-Lys (Dnp)-NH2
SEQ ID	7	DABCYL-KISPQGYGRR-Glu(EDANS)-NH2
SEQ ID	8	Dabcil-MYGGARRL-Glu(Edans)-NH2
SEQ ID	9	Abz-IEGRTSED-(Lys)Dnp-NH2
SEQ ID	10	AIC+SRSLPPIC+IPD-OH

Referencias

- Caliceti P., Veronese F.M., Adv. Drug Deliv. Rev.2003, 55, 1261-1277
- Darmon *et al.*, Diagnostic accuracy of Doppler renal resistive index for reversibility of acute kidney injury in critically ill patients. Intensive Care Med. 2011;37(1):68-76
- Dong-Liang Huang, Jing-Si Bai, Meng Wu, Xia Wang, Bernd Riedl, Elisabeth Pook, Carsten Alt, Marion Erny, Yi-Ming Li, Donald Bierer, Jing Shi, Ge-Min Fang Chem. Commun., 2019, 55, 2821−2824
- Dunkelberger and Song, Complement and its role in innate and adaptive immune responses. Cell Res. 2010;20(1):34-50
- Ellinghaus *et al.*, J Thorac Cardiovasc Surg. 2005 Jun;129(6):1383-90
- Encyclopaedia of Pharmaceutical Technology", 3rd edition, James Swarbrick (Ed.),pp. 3177-3187
- Farrar *et al.*, Collectin-11 detects stress-induced L-fucose pattern to trigger renal epithelial injury. J Clin Invest. 2016;126(5):1911-1925
- Garred *et al.*, A journey through the lectin pathway of complement-MBL and beyond. Immunol Rev. 2016;274(1):74-97
- Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use by Stahl and Wermuth (Wiley- VCH, 2002)
- Héja et al., Revised mechanism of complement lectin-pathway activation revealing the role of serine protease MASP-1 as the exclusive activator of MASP-2. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(26):10498-503
- Héja *et al.*, Monospecific inhibitors show that both mannan-binding lectin-associated serine protease-1 (MASP-1) and are essential for lectin pathway activation and reveal structural plasticity of MASP-2. J Biol Chem. 2012;287(24):20290-300
- Hong-Kui Cui, Ye Guo, Yao He, Feng-Liang Wang, Hao-Nan Chang, Yu-Jia Wang, Fang-Ming Wu, Chang-Lin Tian, Lei Liu Angew. Chem. Int. Ed. 2013, 52, 9558–9562

- http://www.researchdisclosure.com/searching-disclosures, Research Disclosure Database Number 605005, 2014, 01 Aug 2014
- Jan- Patrick Fischer, Ria Schönauer, Sylvia Els- Heindl, Donald Bierer, Johannes Koebberling, Bernd Riedl, Annette G. Beck- Sickinger J Pep Sci. 2019; e3147
- Kocsis *et al.*, Selective inhibition of the lectin pathway of complement with phage display selected peptides against mannose-binding lectin-associated serine protease (MASP)-1 and -2: significant contribution of MASP-1 to lectin pathway activation. J Immunol. 2010;185(7):4169-78
- Kourra CMBK and Cramer N; Chem. Sci., 2016, 7, 7007–7012
- Matejkova *et al.*, Carbamylated erythropoietin-FC fusion protein and recombinant human erythropoietin during porcine kidney ischemia/reperfusion injury. Intensive Care Med. 2011;39:497–510
- Møller-Kristensen *et al.*, Mannan-binding lectin recognizes structures on ischaemic reperfused mouse kidneys and is implicated in tissue injury. Scand J Immunol. 2005;61(5):426-34
- Nomenclature of α-Amino Acids (Recommendations, 1974), Biochemistry, 14(2), (1975)
- Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th edition, Alfonso R. Gennaro (Ed.), Mark Publishing Company, Easton, PA, USA, 1985
- Schwaeble *et al.*, Targeting of mannan-binding lectin-associated serine protease-2 confers protection from myocardial and gastrointestinal ischemia/reperfusion injury. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108(18):7523-8
- Sebesta and Seebach, Helv. Chim. Acta 2003, 86, 4061-4072
- Shuai-Shuai Sun, Junyou Chen, Rui Zhao, Donald Bierer, Jun Wang, Ge-Min Fang, Yi-Ming Li Tetrahedron Letters 2019, 60, 1197–1201
- Sieve et al., Regulation and function of endothelial glycocalyx layer in vascular diseases. Vascul Pharmacol. 2018;100:26–33

- Simon *et al.*, Effects of intravenous sulfide during porcine aortic occlusion-induced kidney ischemia/reperfusion injury. Shock. 2011;35:156–163
- T. Peleg-Shulman *et al.*, J. Med.Chem., 2004, 47, 4897-4904
- Tao Wang, Jian Fan, Xiao-Xu Chen, Rui Zhao, Yang Xu, Donald Bierer, Lei Liu, Yi-Ming Li, Jing Shi, Ge-Min Fang Org. Lett. 2018, 20, 6074–6078
- Tao Wang, Yi-Fu Kong, Yang Xu, Jian Fan, Hua-Jian Xu, Donald Bierer, Jun Wang, Jing Shi, Yi-Ming Li Tetrahedron Letters 2017, 58, 3970–3973;
- Yang Xu, Tao Wang, Chao-Jian Guan, Yi-Ming Li, Lei Liu, Jing Shi, Donald Bierer Tetrahedron Letters 2017, 58, 1677–1680
- Ye Guo, De-Meng Sun, Feng-Liang Wang, Yao He, Lei Liu, Chang-Lin Tian Angew. Chem. Int. Ed. 2015, 54, 14276–14281

Reivindicaciones

1. Un compuesto que contiene un péptido de la siguiente fórmula (II),

$$(X^1)_q(X^2)_rX^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}(X^{13})_s(X^{14})_t \quad \text{(II)},$$

o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, CARACTERIZADO PORQUE

X^1 representa un aminoácido natural o un aminoácido no natural,

q representa el número entero 0 o 1,

X^2 representa el aminoácido natural I,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa el aminoácido natural S,

X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-Metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa el aminoácido natural S,

X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-terc-Butilalanina ((tBu)A),

X^8 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural L-Prolina (3,4-2H),

X9 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural 2,3,3a,4,5,6,7,7a- Octahidroindol-2-ácido carboxílico (Oic),

X^{10} representa el aminoácido natural I,

X^{11} representa un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I,

X^{13} representa el aminoácido natural P,

s representa el número entero 0 o 1,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q y E,

t representa el número entero 0 o 1,

donde el terminal N del péptido no es sustituido, acetilado ni mono- o di-sustituido con alquilo C_1-C_{20},

donde el C-terminal del péptido no se sustituye ni se amida, y

donde el péptido se somete a una ciclización mediante un enlace que conecta X^3 y X^{11}.

2. Un compuesto que contiene un péptido de la fórmula (II),

$$(X^1)_q(X^2)_rX^3X^4X^5X^6X^7X^8X^9X^{10}X^{11}X^{12}(X^{13})_s(X^{14})_t \quad \text{(II)},$$

o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, CARACTERIZADO PORQUE

X^1 representa un aminoácido natural o un aminoácido no natural,

q representa el número entero 0 o 1,

X^2 representa el aminoácido natural I,

r representa el número entero 0 o 1,

X^3 representa el aminoácido natural C o el aminoácido antinatural L-Penicilamina (Pen),

X^4 representa el aminoácido natural S,

X^5 representa el aminoácido natural R o el aminoácido no natural N(5)-Metil-L-arginina ((Me)R),

X^6 representa el aminoácido natural S,

X^7 representa el aminoácido natural L o el aminoácido no natural L-terc-Butilalanina ((tBu)A),

X^8 representa el aminoácido natural P o el aminoácido no natural L-Prolina (3,4-2H),

X^9 representa el aminoácido no natural ácido 2,3,3a,4,5,6,7,7a-octahidroindol-2-carboxílico (Oic),

X^{10} representa el aminoácido natural I,

X^{11} representa el aminoácido natural C, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista que consiste en L-N-metilcisteína ((N-Me)C) y L-penicilamina (Pen),

X^{12} representa el aminoácido natural I,

X^{13} representa el aminoácido natural P,

s representa el número entero 0 o 1,

X^{14} representa un aminoácido natural seleccionado de una lista que consiste en D, Q y E,

t representa el número entero 0 o 1,

donde el terminal N del péptido no es sustituido, acetilado ni mono- o di-sustituido con alquilo C_1-C_{20},

donde el C-terminal del péptido no se sustituye ni se amida, y

donde el péptido se somete a una ciclización mediante un enlace que conecta X^3 y X^{11}.

3. Un compuesto que contiene un péptido según la reivindicación 1, o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en el que

   X^9 representa el aminoácido antinatural 2,3,3a,4,5,6,7,7a-Octahidroindol-2-ácido carboxílico (Oic).

4. Un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3 o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en el que

   X^1 representa un aminoácido natural seleccionado de una lista compuesta por A y G, o un aminoácido no natural seleccionado de una lista compuesta por N-Metilo-L-Alanina (N-Me)A, N-Metilglicina ((N-Me)G), L-Norleucina (Nle), L-Norvalina (Nva) y L-Ornitina (Orn).

5. Un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 4 o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en el que el que el N-terminal y el C-terminal del péptido no son sustituidos.

6. Un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5 o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en el que en el que el péptido es ciclado por medio de un enlace disulfuro que conecta X^3 y X^{11}.

7. Un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 6, o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, mientras que el péptido es sustituido por al menos un grupo PEG.
8. Un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 7 o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, que actúa como inhibidor de la MASP-1 y/o MASP-2 y/o que inhibe la deposición de C3.

9. Un proceso para preparar un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8 o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, utilizando la síntesis de péptidos en fase sólida.
10. Un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, para su uso en la prevención y/o tratamiento de enfermedades.
11. Un compuesto que contiene un péptido según cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8 o un derivado, un profármaco, un análogo, una sal farmacéuticamente aceptable, un disolvente o un solvente de la sal, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de trastornos cardiovasculares y cardiopulmonares, choque, trastornos inflamatorios, secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de la sepsis, daños relacionados con la isquemia y/o la reperfusión, lesiones renales agudas, protección de los trasplantes y retraso en la función de los injertos, enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y del sistema inmunitario, secuelas de la diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias del sistema nervioso, enfermedades de los ojos, enfermedades de la piel, enfermedades del sistema respiratorio, digestivo o genitourinario y secuelas de quemaduras y lesiones.
12. Composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto que contiene un péptido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8 o un derivado, profármaco, análogo, sal farmacéuticamente aceptable, solvato o solvato de la sal, en combinación con uno o más excipientes inertes, no tóxicos y farmacéuticamente adecuados.
13. Composición farmacéutica que comprende por lo menos un compuesto que contiene un péptido de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8 o un derivado, un profármaco, un análogo, una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato o un solvato de la sal, en combinación con

uno o más ingredientes activos adicionales seleccionados del grupo que consiste en inhibidores de las fosfodiesterasas, estimuladores o activadores de la guanilato ciclasa, agonistas de los receptores IP, antagonistas de los receptores de mineralocorticoides, diuréticos, agonistas de la gamma PPAR, PPAR-delta agonista, corticoesteroides, ingredientes activos que reducen el daño a los órganos bajo estrés oxidativo, compuestos que inhiben la inducción de la muerte celular y la vía de apoptosis, compuestos que inhiben la respuesta inflamatoria y la proliferación de células T, agentes antitrombóticos, inhibidor de la agregación plaquetaria, inhibidor de la trombina, antagonista de GPIIb/IIIa, inhibidor del factor Xa, heparina o un derivado de la heparina de bajo peso molecular (LMW) e inhibidores del factor XI de coagulación.

14. Una composición farmacéutica según las Reivindicaciones 12 o 13 para la prevención y/o el tratamiento de trastornos cardiovasculares y cardiopulmonares, choque, trastornos inflamatorios, secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de sepsis, isquemia y/o daños relacionados con la reperfusión, lesión renal aguda, protección de trasplantes y retraso en la función de los injertos, enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y del sistema inmunitario, secuelas de la diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias del sistema nervioso, enfermedades de los ojos, enfermedades de la piel, enfermedades del sistema respiratorio, digestivo o genitourinario y secuelas de quemaduras y lesiones.

15. Método para el tratamiento y/o la prevención de trastornos cardiovasculares y cardiopulmonares, choque, trastornos inflamatorios, secuelas cardiovasculares, pulmonares, cerebrales y renales de sepsis, isquemia y/o daños relacionados con la reperfusión, lesiones renales agudas, protección de trasplantes y retraso en la función de los injertos, enfermedades de la sangre y de los órganos que forman la sangre y del sistema inmunitario, secuelas de la diabetes mellitus, enfermedades inflamatorias del sis-

tema nervioso, enfermedades oculares, enfermedades de la piel, enfermedades del sistema respiratorio, digestivo o genitourinario y secuelas de quemaduras y lesiones en seres humanos y animales mediante la administración de una cantidad efectiva de al menos un compuesto, tal como se define en cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 8, o de una composición farmacéutica según las Reivindicaciones 12 o 13.

COMPUESTOS INHIBIDORES DE LA MASP Y USOS DE ESTOS

Resumen

La presente invención se refiere a los nuevos compuestos inhibidores de la peptidasa de serina asociada a la lectina de unión a la manosa (MBL) (MASP), así como a sus análogos y derivados, a los procesos para la preparación de estos, al uso de estos solos o en combinaciones para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades y al uso de estos para la elaboración de medicamentos para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, especialmente para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades renales y cardiovasculares y de lesiones por isquemia y reperfusión.