

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 570 458**

51 Int. Cl.:

A61K 38/12 (2006.01)

C07K 7/64 (2006.01)

C07K 14/72 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.02.2010** **E 10703641 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.02.2016** **EP 2531204**

54 Título: **Peptidomiméticos fijados sobre una matriz con actividad moduladora de CXCR7**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.05.2016

73 Titular/es:

POLYPHOR AG (100.0%)
Hegenheimermattweg 125
4123 Allschwil, CH

72 Inventor/es:

GOMBERT, FRANK OTTO;
LEDERER, ALEXANDER;
OBRECHT, DANIEL;
ROMAGNOLI, BARBARA;
BISANG, CHRISTIAN y
LUDIN, CHRISTIAN

74 Agente/Representante:

DURÁN MOYA, Luis Alfonso

ES 2 570 458 T3

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

DESCRIPCIÓN

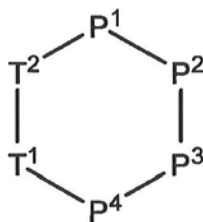
Peptidomiméticos fijados sobre una matriz con actividad moduladora de CXCR7

- 5 La presente invención da a conocer peptidomiméticos de horquilla β fijados a matriz, que están comprendidos en la descripción general pero que no se dan a conocer específicamente en el documento WO2008092281 y que, de modo sorprendente, tienen una elevada actividad sobre el receptor CXCR7. Por esta razón, estos compuestos son útiles en el tratamiento de una serie de enfermedades y trastornos mediados por la actividad de CXCR7 o sostenidos por la misma, o en la ayuda de tratamientos terapéuticos de estados de enfermedad específicos de
- 10 causa primariamente diferente. La presente invención se refiere a procedimientos para la utilización de estos compuestos en el tratamiento de diferentes enfermedades y trastornos, a composiciones y a formas farmacéuticas que comprenden estos compuestos y a un procedimiento eficiente para la preparación y producción de estos compuestos y sus productos intermedios.
- 15 Muchos procesos biológicos médicamente relevantes están mediados por transducción de señal que comporta quimioquinas y sus receptores, por ejemplo, el reclutamiento específico de tejidos de leucocitos en los lugares de inflamación. En cuanto a otros pares de ligando/receptor de sus superfamilias, los GPCR, para algunos receptores está todavía por comprender el alcance completo de la actividad descendente y en algunos casos la función específica del órgano. Uno de estos GPCR desorfanizados recientemente es el receptor de quimioquina CXCR7 (RDC1), que une con elevada afinidad las quimioquinas inflamatorias y direccionales CXCL11 (ITAC) y CXCL12 (SDF-1) (K. Balabanian, B. Lagane y otros, J. Biol. Chem. 2005, 280, 35760-35766, M. Thelen, S. Thelen, J. Neuroimmunol. 2008, 198, 9-13).
- 20 El CXCL12 se une también a otro receptor de quimioquina, CXCR4, y se ha demostrado que el eje CXCL12/CXCR4 juega un papel crucial en diferentes enfermedades inflamatorias y en el cáncer. El descubrimiento reciente de que el CXCL12 se une tanto a CXCR4 como a CXCR7 indica que las funciones fisiológica y patológica de CXCL12 se pueden mediar por dos receptores distintos (C. Dambly-Chaudière y otros, BMC Dev. Biol. 2007, 7-23).
- 25 En contraste con CXCR4, CXCR7 no induce respuestas típicas de quimioquinas tales como la movilización del calcio. En vez de ello, descubrimientos recientes indican que el receptor tiene una función clave en la generación de un gradiente local de CXCL12 para la migración dependiente de CXCR4 por barrido de CXCL12. Estas observaciones parecen ser favorables a un papel principal de CXCR7 como falso receptor ("sumidero de CXCL12") con la función crítica de eliminar el exceso de CXCL12 por internalización (B. Boldajipour, H. Mahabaleshwar y otros, Cell 2008, 132, 463-73; Cell Adh. Migr. 2008, 2, 69-70). Además, se ha demostrado que el CXCR7 puede modular la actividad de CXCR4 formando heterodímeros y que puede activar otras rutas de señalización intracelular (A. Levoe, K. Balabanian y otros, Blood 2009, 113, 6085-93).
- 30 Como consecuencia de la relación funcional íntima entre los dos receptores, el CXCR7 puede estar involucrado en las mismas condiciones de enfermedad en las que se ha demostrado que CXCR4 tiene un importante papel. En particular CXCR7 se expresa notablemente en una serie de tumores y líneas celulares tumorales correspondientes (por ejemplo, próstata, vejiga, cáncer de seno, mieloma múltiple, rabdomiosarcoma, cáncer de células pulmonares no pequeñas); su nivel de expresión está correlacionado frecuentemente con el crecimiento de tumor y además, con el carácter invasivo. Se han sugerido dos mecanismos principales en cuanto al papel de CXCR7 en el desarrollo de tumores y metástasis: 1) incremento de la proliferación de células de cáncer y supervivencia, que puede estar
- 35 soportada por un efecto pro-angiogénico; 2) el CXCR7 favorece la adherencia y migración transendotelial de células de cáncer junto con migración mediada por CXCR4.
- 40 Además, recientes estudios sugieren que CXCR7 puede estar implicado también en artritis reumatoide, otras enfermedades crónicas y/o autoinmunes inflamatorias (G. Graham y otros, Curr. Mol. Med. 2009, 9 (2), 86-93) o hipertensión arterial pulmonar, dado que es regulado de forma ascendente en ciertos tejidos específicos, tales como pulmones en condiciones hipóxicas (C. M. Costello, P. McLoughlin y otros., Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2008, 295 (2), 272-284).
- 45 La presente invención da a conocer nuevas entidades químicas específicas para un uso potencial como ligandos potentes, selectivos y medicamentables para el receptor CXCR7 de GPC. En los compuestos que se describen más adelante, se utiliza una estrategia especial para estabilizar las conformaciones de horquilla β en miméticos de horquilla β de núcleo cíclico mostrando actividad selectiva contra el receptor CXCR7. Esto comporta el trasplante de una secuencia bucle de un biopolímero natural o no natural sobre una matriz, cuya función consiste en restringir el núcleo del bucle de péptido en una geometría de horquilla β .
- 50 Se han descrito en la literatura péptidos miméticos de horquilla unidos a matriz (D. Obrecht, J. A. Robinson, Adv. Med. Chem. 1999, 4, 1-68; J. A. Robinson, Syn. Lett. 2000, 4, 429-441) y se han establecido la habilidad de generar peptidomiméticos de horquilla β utilizando procedimientos combinatoriales y de síntesis en paralelo (L. Jiang, K. Moehle, B. Dhanapal, D. Obrecht, J. A. Robinson, Helv. Chim. Acta. 2000, 83, 3097-3112). Estos procedimientos permiten la síntesis y cribado de grandes bibliotecas miméticas de horquilla, lo que a su vez facilita
- 55
- 60
- 65

considerablemente los estudios de estructura-actividad y, por lo tanto, el descubrimiento de nuevas moléculas con actividad potente y especialmente selectiva agonista y antagonista.

Hay pocos estudios en este sector que describan péptidos tetraméricos enlazados a una matriz como agonistas y/o antagonistas de los GPCR en general (por ejemplo, WO2008092281), o como antagonistas del receptor B₂ de bradiquinina (J.L. Krstenansky; T. Ho y otros, Letters in Peptide Sci. 1995, 1, 229-234). Adicionalmente, se conocen péptidos hexaméricos cíclicos que tienen actividad antagonista contra el receptor transmembrana $\alpha_4\beta_7$ integrina (J. Boer, D. Gottschling y otros, J. Med. Chem. 2001, 44, 2586-2592). Se muestran moléculas no peptídicas que inhiben la unión de SDF-1 a CXCR7 en el documento WO2007115231. La presente invención da a conocer nuevos compuestos que difieren significativamente en su estructura y muestran una elevada actividad biológica y sorprendente selectividad para un nuevo receptor específico en este sector, a saber, el receptor CXCR7.

La presente invención se refiere a nuevos peptidomiméticos de horquilla β de fórmula (I)



(I)

en la que los elementos individuales T o P son aminoácidos, o residuos de aminoácidos, que están conectados desde el punto de acoplamiento de carbonilo (C=O) al nitrógeno (N) del siguiente elemento en dirección de las agujas del reloj y en el que dichos elementos están conectados para formar péptidos cíclicos seleccionados entre

ciclo(-Ala-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Phe-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His(Me)-^Dphe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Tyr-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Arg-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-1Nal-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-2Nal-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DTrp-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DIle-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DArg-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DOrn-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Phe-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Tyr-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-2Nal-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Ile-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Arg-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Lys-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Orn-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Dab-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-His-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Tyr-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tiq-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Oic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-(4S)-Hyp(Bn)-);
 ciclo(-1Nal-^DArg-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-1Nal-^DHis-Ile-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Abu-^DArg-Arg-Trp-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His-^DTrp-His-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Ile-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Ile-^DArg-Ile-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Ile-^DTrp-His-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Arg-^DTrp-His-Arg-^DPro-Tic-);

ciclo(-Arg-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DArg-His-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DArg-His-Trp-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His-^D1Nal-His-Trp-^DPro-Tic-);
 5 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DTic-Pro-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPip-Pro-);
 ciclo(-1Nal-^DHis-Ile-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-1Nal-^DArg-Ile-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-1Nal-^DArg-Trp-Arg-^DPro-Azt-);
 10 ciclo(-1Nal-^DHis-Tyr-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DArg-Trp-Ile-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DHis-Ile-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DThr-Tyr-Arg-^DPro-Azt-);
 15 ciclo(-Trp-^DArg-Ile-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DArg-Trp-Arg-^DPro-Azt-);
 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

20 En una realización preferente de la invención los compuestos de fórmula general (I) se seleccionan del grupo que consiste en:

ciclo(-Tyr-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Arg-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-2Nal-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 25 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Orn-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Dab-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tiq-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Oic-);
 30 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-(4S)-Hyp(Bn)-);
 ciclo(-Ile-^DArg-Ile-Arg-^DPro-Tic-);

y de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

35 A continuación sigue una lista de abreviaturas que corresponde a la práctica habitual adoptada de aminoácidos, los cuales, o sus residuos, son adecuados para los objetivos de la presente invención y a los que se hace referencia en este documento:

40	Ala	L-Alanina
	Arg	L-Arginina
	His	L-Histidina
	Ile	L-Isoleucina
	Lys	L-Lisina
	Orn	L-Ornitina
45	Phe	L-Fenilalanina
	Pro	L-Prolina
	Thr	L-Treonina
	Trp	L-Triptófano
	Tyr	L-Tirosina
50	Azt	ácido (S)-acetidin-2-carboxílico
	Abu	ácido (S)-2-aminobutanoico
	Dab	ácido (S)-2,4-diaminobutanoico
	His(Me)	ácido (S)-2-amino-3-(1-metil-1 <i>H</i> -imidazol-5-il)-propanoico
	(4S)-Hyp(Bn)	ácido (2S,4S)-4-(benciloxi)pirrolidin-2-carboxílico
55	1Nal	ácido (S)-2-amino-3-naftalen-1-ilpropanoico
	2Nal	ácido (S)-2-amino-3-naftalen-2-ilpropanoico
	Oic	ácido (2S,3aS,7aS)-octahidro-1 <i>H</i> -indol-2-carboxílico
	Pip	ácido (S)-piperidin-2-carboxílico
	Tic	ácido (S)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico
60	Tiq	ácido (S)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-1-carboxílico

La abreviatura de D-isómeros, por ejemplo, ^D2Nal, corresponde al epímero en la posición 2 del aminoácido apropiado descrito anteriormente.

65 De acuerdo con la invención, la preparación de los peptidomiméticos de horquilla β antes mencionados y de sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar por un procedimiento que comprende las siguientes etapas

- (a) acoplar un soporte sólido apropiadamente funcionalizado con un derivado apropiadamente N-prottegido de dicho aminoácido que en el producto final deseado se encuentra en posición T^1 o T^2 o P^1 a P^4 tal como se ha definido anteriormente; encontrándose cualquier grupo funcional que pueda encontrarse presente en dicho derivado de aminoácido N-prottegido igualmente protegido de forma apropiada;
- (b) eliminar el grupo N protector del producto obtenido en la etapa (a);
- (c) acoplar el producto obtenido de este modo con un derivado apropiadamente N protegido de dicho aminoácido que en el producto final deseado se encuentra en la posición del elemento siguiente (T o P), siguiendo en el sentido contrario a las agujas del reloj la secuencia de acuerdo con la fórmula general (I) en orientación $-\text{COOH}$ a $-\text{NH}_2$; encontrándose apropiadamente protegido de manera similar cualquier grupo funcional, que puede encontrarse presente en dicho derivado de aminoácido N protegido;
- (d) eliminar el grupo N protector del producto obtenido de este modo;
- (e) repetir las etapas (c) y (d) hasta que se han introducido todos los residuos de aminoácidos;
- (f) en caso deseado, desproteger selectivamente uno o varios grupos funcionales protegidos presentes en la molécula y sustituir de manera apropiada los grupos reactivos liberados de esta forma;
- (g) desacoplar el producto obtenido de este modo del soporte sólido;
- (h) ciclizar el producto separado del soporte sólido;
- (i) eliminar cualesquiera grupos protectores presentes en grupos funcionales de cualesquiera miembros de la cadena de residuos de aminoácido y, en caso deseado, cualesquiera grupo o grupos protectores que pueden encontrarse presentes además en la molécula; y
- (j) en caso deseado, implementar transformaciones químicas adicionales de uno o varios grupos reactivos presentes en la molécula y/o
- (k) en caso deseado, convertir el producto obtenido de este modo en una sal farmacéuticamente aceptable o convertir una sal farmacéuticamente aceptable, o inaceptable obtenida de este modo en el compuesto libre correspondiente de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable distinta.

El procedimiento de la invención puede ser llevado a cabo ventajosamente en forma de un conjunto de síntesis en paralelo para obtener bibliotecas de peptidomiméticos de horquilla β fijados a matriz de la fórmula general anterior (I). Esta síntesis en paralelo permite obtener conjuntos de numerosos compuestos (normalmente de 24 a 192, típicamente 96) de fórmula general (I) con elevados rendimientos y purezas definidas, minimizando la formación de subproductos diméricos y poliméricos. La elección apropiada del soporte sólido funcionalizado (es decir, soporte sólido más la molécula enlazadora), la matriz y el lugar de ciclización juegan papeles clave.

El soporte sólido funcionalizado es derivado de manera conveniente de poliestireno reticulado, preferentemente con 1-5%, de divinilbenceno; poliestireno recubierto con separadores de polietilenglicol (Tentagel®); y resinas de poliácridamida (ver también Obrecht, D.: Villalgordo, J.-M. "Solid- Supported Combinatorial and Parallel Synthesis of Small-Molecular-Weight Compound Libraries", Tetrahedron Organic Chemistry Series, Vol. 17, Pergamon, Elsevier Science, 1998).

El soporte sólido es funcionalizado por medio de un enlazador, es decir, una molécula separadora bifuncional que contiene en un extremo un grupo de anclaje para acoplamiento al soporte sólido y en el otro extremo un grupo funcional selectivamente separable, utilizado para transformaciones químicas subsiguientes y procesos de separación. Para los propósitos de la presente invención, se utilizan dos tipos de enlazadores:

Los enlazadores de tipo 1 están diseñados para liberar el grupo amida en condiciones ácidas (Rink H, Tetrahedron Lett. 1987, 28, 3783-3790). Los enlazadores de este tipo forman amidas del grupo carboxilo de los aminoácidos; se incluyen entre los ejemplos de resinas funcionalizadas por dichas estructuras enlazadoras resina 4-(((2,4-dimetoxifenil)Fmoc-aminometil)fenoxiacetamido)aminometil] PS, resina 4-(((2,4-dimetoxifenil)Fmoc-aminometil)fenoxiacetamido)aminometil]-4-metilbencidrilamina PS (amida Rink resina BHA PS), y resina 4-(((2,4-dimetoxifenil)Fmoc-aminometil)fenoxiacetamido)aminometil]bencidrilamina PS (amida Rink resina BHA PS). Preferentemente, el soporte se deriva de poliestireno reticulado, de manera más preferente con 1-5% de divinilbenceno y funcionalizado por medio del enlazador 4-(((2,4-dimetoxifenil)-Fmoc-aminometil)fenoxiacetamido).

Los enlazadores de tipo 2 están diseñados para liberar eventualmente el grupo carboxilo en condiciones ácidas. Los enlazadores de este tipo forman ésteres inestables a los ácidos con el grupo carboxilo de los aminoácidos, usualmente bencilo inestable a los ácidos, ésteres de bencilidilo y tritilo; incluyéndose entre los ejemplos de dichas estructuras enlazadoras 2-metoxi-4-hidroximetilfenoxi (enlazador Sasrin®), 4-(2,4-dimetoxifenil-hidroximetil)-fenoxi (enlazador Rink), ácido 4-(4-hidroximetil-3-metoxifenoxi)butírico (enlazador HMPB), tritilo y 2-clorotritilo. Preferentemente, el soporte se deriva de poliestireno reticulado con, de manera más preferente con 1-5%, de divinilbenceno y funcionalizado por medio del enlazador de 2-clorotritilo.

Cuando se lleva a cabo como síntesis en paralelo los procesos de la invención pueden ser llevados a cabo ventajosamente, tal como se describe a continuación, pero será inmediatamente evidente para los técnicos en la materia la forma en la que estos procedimientos se tendrán que modificar en caso de que se desee sintetizar un compuesto único de la anterior fórmula (I).

Se carga una serie de reactores (normalmente 24 a 192, típicamente 96) igual al número total de compuestos a sintetizar por el método en paralelo con 25 a 1000 mg, preferentemente 100 mg, del soporte sólido apropiadamente funcionalizado, que es derivado preferentemente de poliestireno reticulado con 1 a 3% de divinilbenceno, o de la resina Tentagel.

El disolvente a utilizar, debe ser capaz de hinchar la resina e incluye, sin que esté limitado a ello, diclorometano (DCM), dimetilformamida (DMF), N-metilpirrolidona (NMP), dioxano, tolueno, tetrahidrofurano (THF), etanol (EtOH), trifluoroetanol (TFE), isopropilalcohol y similares. Las mezclas de disolventes que contienen, como mínimo, un disolvente polar como componente (por ejemplo, 20% TFE/DCM, 35% THF/NMP) son ventajosos para asegurar elevada reactividad y solvatación de las cadenas de péptidos unidas a la resina (Fields, G.B., Fields, C. G., J. Am. Chem. Soc. 1991, 113, 4202-4207).

Con el desarrollo de varios enlazadores que liberan el grupo de ácido carboxílico del terminal C, bajo condiciones solamente ácidas, que no afectan los grupos inestables a los ácidos que protegen grupos funcionales en las cadenas laterales, se han conseguido importantes progresos en las síntesis de fragmentos de péptidos protegidos. El enlazador derivado de 2-metoxi-4-hidroxibencilalcohol (enlazador Sasrin®, Mergler y otros, Tetrahedron Lett. 1988, 29 4005-4008) es fraccionable con ácido trifluoroacético diluido (0,5-1% TFA en DCM) y es estable a las condiciones de desprotección a Fmoc durante la síntesis del péptido, siendo compatibles con este esquema de protección grupos protectores adicionales basados en Boc/tBu. Otros enlazadores que son apropiados para los procesos de la invención incluyen el superenlazador inestable a los ácidos 4-(2,4-dimetoxifenil-hidroximetil)-fenoxi (enlazador Rink, Rink, H. Tetrahedron Lett. 1987, 28, 3787-3790), en el que la eliminación del péptido requiere ácido acético al 10% en DCM o 0,2% de ácido trifluoroacético en DCM; el enlazador derivado de ácido 4-(4-hidroximetil-3-metoxifenoxi)-butírico (enlazador HMPB, Flörsheimer & Riniker, Peptides 1991, 1990 131) que es fraccionada también con 1% TFA/DCM para facilitar un fragmento de péptido, que contiene todos los grupos protectores de cadena lateral inestables a los ácidos y, además, el enlazador de 2-clorotritilcloruro (Barlos y otros, Tetrahedron Lett. 1989, 30, 3943-3946), que permite el desacoplamiento del péptido utilizando la mezcla de ácido acético glacial/trifluoroetanol/DCM (1:2:7) durante unos 30 minutos. Son grupos protectores adecuados para aminoácidos y, respectivamente, para sus residuos, por ejemplo,

- para el grupo amino (tal como se encuentra presente también en la cadena lateral de lisina)

Cbz	benciloxicarbonilo
Boc	tert.-butiloxicarbonilo
Fmoc	9-fluorenilmetoxicarbonilo
Alloc	alililoxicarbonilo
Teoc	trimetilsililetoxicarbonilo
Tcc	tricloroetoxicarbonilo
Nps	o-nitrofenilsulfonilo;
Trt	trifenimetil o tritilo

- para el grupo carbóxilo (tal como se encuentra presente, por ejemplo, también en la cadena lateral del ácido aspártico y ácido glutámico) por conversión en ésteres con los componentes alcohol

tBu	tert.-butilo
Bn	bencilo
Me	metilo
Ph	fenilo
Pac	fenacil alilo
Tse	trimetilsilietilo
Tce	tricloroetilo;

- para el grupo guanidino (tal como se encuentra presente, por ejemplo, en la cadena lateral de la arginina)

Pmc	2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo
Ts	tosil (es decir, p-toluensulfonilo)
Cbz	benciloxicarbonilo
Pbf	2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofurano-5-sulfonilo

- para el grupo hidroxilo (tal como se encuentra presente, por ejemplo, en la cadena lateral de la treonina y serina)

tBu	tert.-butilo
Bzn	bencilo
Trt	tritilo

- y para el grupo mercapto (tal como se encuentra presente, por ejemplo, en la cadena lateral de la cisteína)

Acn	acetamidometilo
tBu	<i>tert</i> -butilo
Bn	bencilo
Trt	trilito
Mtr	4-metoxitritilo

Los derivados de aminoácidos protegidos por 9-fluorenilmetoxicarbonilo-(Fmoc) y sus derivados, se utilizan preferentemente como elementos componentes para la construcción de los miméticos de bucle de horquilla β fijados a matriz de la fórmula (I). Para la desprotección, es decir, separación del grupo Fmoc, se puede utilizar 20% de piperidina en DMF o 2% de DBU/2% piperidina en DMF.

La cantidad del reactivo, es decir el derivado de aminoácido, es usualmente de 1 a 20 equivalentes basado en los miliequivalentes por gramo (meq/g) de carga del soporte sólido funcionalizado (de manera típica 0,1 a 2,85 meq/g para resinas de poliestireno) pesado originalmente en el tubo de reacción. Se pueden utilizar equivalentes adicionales de reactivos, en caso necesario, para llevar la reacción a su terminación en un tiempo razonable. Los tubos de reacción en combinación con el bloque de soporte y el colector son insertados en el bloque de depósito y el aparato es fijado en conjunto. Se inicia el flujo de gas a través del colector para proporcionar un ambiente controlado, por ejemplo, nitrógeno, argón, aire y similares. El flujo de gas puede ser calentado también o enfriado antes de subflujo por el colector. El calentamiento o enfriamiento de los pocillos de reacción se consigue por calentamiento del bloque de reacción o enfriándolo externamente con isopropanol/hielo seco y similares para llevar a cabo las reacciones sintéticas deseadas. Se logra la agitación sometiendo a agitación o agitación magnética (dentro del tubo de reacción). Las estaciones de trabajo preferentes (sin que ello sea limitativo) son la estación Labsource's Combi-chem y el sintetizador MultiSyn Tech's-Syro.

La formación de enlaces de amina requiere la activación del grupo α carboxilo para la etapa de acilación. Si esta activación es llevada a cabo por medio de las carbodiimidas, habitualmente utilizadas, tales como dicitclohexilcarbodiimida (DCC, Sheehan & Hess, J. Am. Chem. Soc. 1955, 77, 1067-1068) o diisopropilcarbodiimida (DIC, Sarantakis y otros Biochem. Biophys. Res. Commun. 1976, 73, 336-342), la dicitclohexilurea y la diisopropilurea resultantes son respectivamente insoluble y soluble en los disolventes utilizados de manera general. En una validación del procedimiento de carbodiimida se incluye como aditivo a la mezcla de acoplamiento 1-hidroxibenzotriazol (HOBt, König & Geiger, Chem. Ver 1970, 103, 788-798) a la mezcla de acoplamiento. El HOBt impide la deshidratación, suprime la racemización de los aminoácidos activados y actúa como catalizador mejorando las lentas reacciones de acoplamiento. Se han utilizado algunos reactivos de fosfonio como reactivos de acoplamiento directo, tales como benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonio hexafluorofosfato (BOP, Castro y otros, Tetrahedron Lett. 1975, 14, 1219-1222; Synthesis, 1976, 751-752), o benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfonio hexafluorofosfato (Py-BOP, Coste y otros, Tetrahedron Lett. 1990, 31, 205-208), o 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU), o hexafluorofosfato (HBTU, Knorr y otros, Tetrahedron Lett. 1989, 30, 1927-1930); estos reactivos de fosfonio y de uronio son también adecuados para la formación in situ de ésteres HOBt con los derivados de aminoácido protegido. Más recientemente, se han utilizado también como agentes de acoplamiento difenoxifosforil ácido (DPPA) o O-(7-aza-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TATU) o O-(7-aza-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HATU)/7-aza-1-hidroxibenzotriazol (HOAt, Carpino y otros, Tetrahedron Lett. 1994, 35, 2279-2281) debido al hecho de que son esenciales reacciones de acoplamiento casi cuantitativas, es deseable tener la prueba experimental de que se han terminado las reacciones. La prueba ninhidrina (Kaiser y otros, Anal. Biochemistry 1970, 34, 595), en la que una respuesta colorimétrica positiva a una cantidad alícuota de péptido unido a la resina indica cualitativamente la presencia de la amina primaria, se puede llevar a cabo de manera fácil y rápida después de cada etapa de acoplamiento. La química de Fmoc permite la detección espectrofotométrica del cromóforo Fmoc cuando éste se libera con la base (Meienhofer y otros, Int. J. Peptide Protein Res. 1979, 13, 35-42).

El producto intermedio unido a la resina dentro de cada tubo de reacción es lavado para liberarlo del exceso de reactivos retenidos, de disolventes y de subproductos por exposición repetida a disolventes puros.

Los procesos de lavado se repiten hasta unas 30 veces (preferentemente unas 5 veces), controlando la eficacia del reactivo, disolvente, y eliminación de subproductos por métodos, tales como TLC, GC, LC-MS o inspección de los lavados. El procedimiento anteriormente descrito de hacer reaccionar el compuesto unido a la resina con reactivos dentro de los pocillos de reacción, seguido de eliminación de los reactivos en exceso, subproductos y disolventes se repite con cada transformación sucesiva hasta obtener el péptido lineal protegido completamente unido a la resina.

Antes de desacoplar este péptido lineal completamente protegido del soporte sólido, es posible, en caso deseado, desproteger selectivamente uno o varios grupos funcionales protegidos presentes en la molécula y sustituir de manera apropiada lo del grupo o grupos reactivos liberados de este modo. A este efecto, el grupo o grupos funcionales en cuestión deben ser protegidos inicialmente por el grupo de protección que puede ser eliminado selectivamente sin afectar el resto de grupos protectores presentes. Un grupo protector de amino de este tipo es, por ejemplo, Alloc (aliloxicarbonilo) que se puede eliminar selectivamente, por ejemplo, por medio de Pd^0 y fenilsilano en CH_2Cl_2 , sin afectar los grupos protectores restantes, tales como Fmoc, presentes en la molécula. De este modo, por ejemplo, se puede acilar un grupo amino por medio de un agente acilante, que corresponde al acilo sustituyente a

introducir.

Después de desacoplamiento del péptido lineal completamente protegido del soporte sólido, las soluciones/extractos individuales son manipulados de la manera necesaria para aislar los compuestos finales. Las manipulaciones típicas incluyen, sin que ello sea limitativo, evaporación, concentración, extracción líquido/líquido, acidificación, basificación, neutralización o reacciones adicionales en solución.

Las soluciones que contienen los derivados péptidos minerales completamente protegidos que han sido separados del soporte sólido y neutralizados con la base, son evaporados. La ciclización es llevada a cabo a continuación en solución utilizando disolventes tales como DCM, DMF, dioxano, THF y similares. Se pueden utilizar varios reactivos de acoplamiento que se han mencionado anteriormente para la ciclización. La duración de la ciclización es aproximadamente de 6-48 horas, preferentemente unas 16 horas. El avance de la reacción es seguido, por ejemplo por RP-HPLC (Cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa). Entonces el disolvente es eliminado por evaporación, el derivado péptido cíclico completamente protegido es disuelto en un disolvente que no es miscible con agua, tal como DCM, y la solución es extraída con agua o una mezcla de disolventes solubles, en agua para eliminar cualquier exceso del agente de acoplamiento.

Finalmente, el derivado péptido completamente protegido es tratado con 95% TFA, 2,5% H₂O, 2,5% TIS u otra combinación de barredores para efectuar el cribado de los grupos protectores. El tiempo de la reacción de cribado es eventualmente de 30 minutos a 12 horas, preferentemente de unas 2,5 horas. Los volátiles son evaporados hasta estado seco y el péptido en crudo es disuelto en 20% AcOH en agua y extraído con isopropil éter u otros disolventes adecuados para ello. La capa acuosa es recogida y evaporada hasta estado seco, y el derivado péptido cíclico completamente desprotegido de fórmula (I) es obtenido en forma de producto final.

Para algún compuesto de la presente invención de acuerdo con la fórmula general (I) se requieren etapas sintéticas adicionales. Estas transformaciones pueden ser aplicadas en un péptido cíclico o lineal parcialmente desprotegido, acoplado o ya liberado del soporte sólido, o en una molécula desprotegida final tal como se indica a continuación como ejemplo.

Dependiendo de su pureza, este derivado péptido puede ser utilizado directamente para ensayos biológicos, o tiene que ser purificado adicionalmente, por ejemplo por HPLC preparativa.

Tal como se ha mencionado anteriormente, resulta por lo tanto posible, en caso deseado, convertir un producto completamente desprotegido de fórmula (I) obtenido de este modo en una sal farmacéuticamente aceptable o convertir una sal farmacéuticamente aceptable, o inaceptable, obtenida de este modo en el correspondiente compuesto libre de fórmula (I) o en una sal diferente, farmacéuticamente aceptable. Cualquiera de estas operaciones puede ser llevada a cabo por procedimientos bien conocidos en la técnica.

En general los bloques componentes para los peptidomiméticos de la presente invención se pueden sintetizar de acuerdo con la literatura o son conocidos por los técnicos en la materia y/o se encuentran a disposición comercialmente. Los aminoácidos correspondientes han sido descritos como racematos no protegidos o como racematos protegidos por Boc o Fmoc, (D)- o (L)-isómeros. Se apreciará que los elementos constituyentes de aminoácido no protegidos pueden ser transformados fácilmente en los elementos componentes de aminoácido Fmoc protegidos requeridos para la presente invención por manipulaciones estándar de grupo protector. Resúmenes que describen procedimientos generales para la síntesis de los α aminoácidos incluyen: R. Duthaler, Tetrahedron (Report) 1994, 349, 154-1650; R. M. Williams, "Synthesis of optically active α -amin acids", Tetrahedron Organic Chemistry Series, Vol.7, J. E. Baldwin, P. D. Magnus (Eds.), Pergamon Press., Oxford 1989. Un procedimiento especialmente útil para la síntesis de α -amino ácidos ópticamente activos relevantes para esta invención incluye resolución cinética utilizando enzimas hidrolíticas (M. A. Verthovskaya, I. A. Yamskov, Russian Chem. Rev. 1991, 60, 1163-1179; R. M. Williams "Synthesis of optically active α -amino acids", Tetrahedron Organic Chemistry Series, Vol.7, J. E. Baldwin, P. D. Magnus (Eds.), Pergamon Press., Oxford 1989, Chapter 7, p.257-279). Las enzimas hidrolíticas comportan la hidrólisis de amidas y nitrilos por aminopeptidasas o nitrilasas, fraccionamiento de los grupos N-acilo por acilasas, e hidrólisis ester por lipasas o proteasas. Esta bien documentado que ciertas enzimas conducirán específicamente a (L) enantiómeros puros mientras que otras conducirán a los correspondientes (D)-enantiómeros (por ejemplo: R. Duthaler, Tetrahedron Report 1994, 349, 1540-1650; R. M. Williams "Synthesis of optically active α -amino acids", Tetrahedron Organic Chemistry Series, Vol.7, J. E. Baldwin, P. D. Magnus (Eds.), Pergamon Press., Oxford 1989).

Los peptidomiméticos de horquilla β de la presente invención pueden ser utilizados en una amplia gama de aplicaciones para modular selectivamente la actividad del receptor CXCR7 y, por lo tanto, son útiles en el tratamiento de una serie de enfermedades y trastornos mediados por o sostenidos a través de la actividad de CXCR7 o en tratamientos terapéuticos de ayuda de estados de enfermedad específicos de causa primaria diferente por ejemplo, sin que ello sea limitativo, trastornos de la área dermatológica, enfermedades metabólicas, enfermedades inflamatorias, enfermedades fibróticas, enfermedades infecciosas, enfermedades neurológicas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades respiratorias, trastornos del tubo gastrointestinal, enfermedades

urológicas, enfermedades oftálmicas, enfermedades estomatológicas, enfermedades hematológicas y cáncer, o la movilización de células madre, en el hombre o, debido a su etiología similar, en otros mamíferos.

En especial se pueden utilizar como agentes para tratar y/o prevenir enfermedades o estados tales como, sin que ello sea limitativo, infecciones HIV, infección por el virus de Epstein-Barr, conjuntivitis, escleritis, uveitis, síndrome de ojos secos, síndrome de Sjögren, glaucoma, degeneración macular relativa a la edad, rinosinusitis, síndrome de Whim, lupus eritematosus, hipertensión pulmonar, hipoxia pulmonar, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, osteoartritis, artritis reumatoide, sinovitis, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes melitus, enfermedad de Crohn, enfermedad de tejidos colectivos mixta, tiroiditis linfocítica crónica, enfermedad de Graves, enfermedad de huesped contra injerto, aterosclerosis, miocarditis, fallo cardíaco, tal como infarto de miocardio; angiogénesis, sarcoma, tal como osteosarcoma, rhabdomiosarcoma, sarcoma de Kaposi, sarcoma sinovial; lipoma, tal como angioliopoma; glioblastoma multiforme, astrocitomas, metástasis, neuroblastoma; carcinoma, tal como adenocarcinoma; neoplasmas malignos epitelial y mucoepidermoide, neoplasma de tiroide, neoplasmas gonadales, cáncer de próstata, cáncer de seno, melanoma, carcinoma de pulmón, carcinoma pancreático, cáncer colorrectal; tumores sólidos; linfoma, tal como linfoma de Birkitt, linfoma de Hodgkin, linfoma no de Hodgkin; mieloma múltiple y leucemia; para movilización de células madre de células madre de la sangre periférica y/o células madre mesenquimales; o para diferentes tipos de recuperación de tejidos en humanos u otros mamíferos.

Para su utilización como medicamentos los peptidomiméticos de horquilla β se pueden administrar solo, como mezclas de varios peptidomiméticos de horquilla β o en combinación con otros agentes activos farmacéuticamente. Los peptidomiméticos de horquilla β pueden ser administrados por sí mismos o pueden ser aplicados como preparación farmacéutica, por ejemplo con la formulación apropiada junto con portadores, diluyentes o excipientes bien conocidos en esta técnica.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden peptidomiméticos de horquilla β de la invención pueden ser fabricados por medio de mezcla convencional, disolución, granulación, fabricación de tabletas recubiertas, levigado, emulsión, encapsulado, atrapamiento o liofilización. Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas de manera convencional utilizando uno o varios portadores fisiológicamente aceptables, diluyentes, excipientes o auxiliares que faciliten el proceso de los peptidomiméticos de horquilla β activos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. La formulación apropiada depende del procedimiento de administración escogido.

Para administración tópica los peptidomiméticos de horquilla β de la invención pueden ser formulados en forma de soluciones, geles, ungüentos, cremas, suspensiones, etc., tal como es bien conocido en esta técnica.

Las formulaciones sistémicas incluyen las diseñadas para administración por inyección, por ejemplo subcutánea, intravenosa, intramuscular, intratecal o intraperitoneal, así como las diseñadas para administración transdérmica, transmucosal, oral o pulmonar.

Para las inyecciones, los peptidomiméticos de horquilla β de la presente invención se pueden formular en soluciones adecuadas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como la solución de Hink, la solución de Ringer, o tampón salino fisiológico. La solución puede comprender agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o agentes dispersantes. De manera alternativa, los peptidomiméticos de horquilla β de la presente invención podrán encontrarse en forma de polvo para combinación con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril libre de pirógenos, antes de su utilización.

Para su administración transmucosal, se utilizan penetrantes apropiados a la barrera que se desea permear en la formulación tal como es conocido en esta técnica.

Para su administración oral, los compuestos pueden ser formulados fácilmente por combinación de los peptidomiméticos de horquilla β activos de la invención con portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en esta técnica. Estos portadores posibilitan que los peptidomiméticos de horquilla β de la invención sean formulados en forma de pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, emulsiones, suspensiones, etc., para ingestión por parte del paciente a tratar. Para formulaciones orales tales como, por ejemplo, polvos, cápsulas y tabletas, los excipientes adecuados incluyen cargas tales como azúcares, tal como lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol; preparados de celulosa tal como almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, hidroxipropilmetilo celulosa, carboximetilcelulosa sódica, y/o polivinilpirrolidona (PVP); agentes de granulación; y agentes de unión. En caso deseado se pueden añadir agentes desintegrantes, tales como polivinilpirrolidonas reticuladas, agar, o ácido alginico o una sal del mismo, tal como alginato sódico. En caso deseado, las formas de dosificación sólidas pueden ser recubiertas de azúcar o dotadas de un recubrimiento entérico utilizando técnicas estándar.

Para preparaciones orales líquidas tales como, por ejemplo, suspensiones, elixires y soluciones, se pueden añadir portadores adecuados, excipientes o diluyentes que comprenden agua, glicoles, aceites, alcoholes, etc. Además, se pueden añadir igualmente agentes de sabor, conservantes, agentes de color y otros semejantes.

Para administración bucal, la composición puede adoptar la forma de tabletas, pastillas, etc. de la forma habitual.

Para administración por inhalación, los peptidomiméticos de horquilla β de la invención son suministrados convenientemente en forma de un aerosol mediante envases a presión o un nebulizador, con la ayuda de un propulsor adecuado, por ejemplo dlorodifluorometano, triclorofluorometano, dióxido de carbono u otro gas apropiado. En el caso de un aerosol a presión la dosis unitaria se puede determinar proporcionando una válvula para facilitar una cantidad dosificada. Se pueden formular cápsulas y cartuchos por ejemplo de gelatina para su utilización en un inhalador o insuflador conteniendo una mezcla de polvo de los peptidomiméticos de horquilla β de la invención como base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Los compuestos pueden ser formulados también en composiciones rectales o vaginales tales como soluciones para enema o supositorios junto con las bases de supositorio apropiadas tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Además de las formulaciones descritas anteriormente, los peptidomiméticos de horquilla β pueden ser formulados también como preparados para depósito. Estas formulaciones de acción prolongada se pueden administrar por implantación (por ejemplo por vía subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Para la fabricación de dichos preparados de depósito los peptidomiméticos de horquilla β de la invención se pueden formular con materiales polímeros o hidrofóbicos apropiados (por ejemplo una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, tal como sales escasamente solubles.

Además, se pueden utilizar otros sistemas de suministro farmacéutico tales como liposomas y emulsiones bien conocidos en esta técnica. Se pueden utilizar algunos disolventes orgánicos tales como dimetilsulfoxido. Adicionalmente, los peptidomiméticos de horquilla β de la presente invención pueden ser suministrados utilizando un sistema de liberación continuada, tal como matrices semipermeables de polímeros sólidos que contienen el agente terapéutico. Se han establecido diferentes materiales de liberación continuada y son bien conocidos por los técnicos en la materia. Las cápsulas de liberación continuada pueden liberar, dependiendo de su naturaleza química, los compuestos para algunas semanas o llegando hasta 3 años. Dependiendo de la naturaleza química y de la estabilidad biológica del agente terapéutico se pueden utilizar estrategias adicionales para la estabilización de la proteína.

Dado que los peptidomiméticos de horquilla β de la invención pueden contener residuos cargados, pueden ser incluidos en cualquiera de las formulaciones antes descritas como tales o como sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables tienden a ser más solubles en disolventes acuosos y otros disolventes próticos que las correspondientes formas de base libre.

Además los compuestos de la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden ser utilizadas en sí mismas o en cualquier formulación apropiada en diferentes formas morfológicas sólidas, que pueden contener o no diferentes cantidades de disolvente, por ejemplo, hidrato que permanece del proceso de cristalización.

Los peptidomiméticos de horquilla β de la invención o composiciones de las mismas, se utilizarán en general en cualquier cantidad efectiva para conseguir el objetivo deseado. Se debe comprender que la cantidad utilizada dependerá de la aplicación específica.

Para la utilización para el tratamiento o prevención de enfermedades o alteraciones con una etiología que comprende o está asociada con un incremento o reducción de la actividad del receptor CXCR7 y sus ligandos (por ejemplo, CXCL11 y CXCL12), los peptidomiméticos de horquilla β de la invención o composiciones de los mismos son administradas o aplicadas en una cantidad terapéuticamente efectiva. La determinación de la cantidad terapéuticamente efectiva se encuentra dentro de las capacidades de los técnicos en la materia, especialmente en vista a la materia detallada que se explica.

La dosificación efectiva de los ingredientes activos utilizados puede variar dependiendo del compuesto particular o preparación farmacéutica utilizada, del modo de administración y de la severidad y tipo del estado tratado. De este modo, el régimen de dosificación es seleccionado de acuerdo con factores que incluyen la ruta de administración y la ruta de eliminación, por ejemplo, la función renal y hepática del paciente. Un médico, clínico o veterinario experto en la materia puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad de los ingredientes activos individuales requeridos para prevenir, mejorar o interrumpir el avance del estado o enfermedad considerados. La precisión óptima en conseguir la concentración de ingredientes activos sin toxicidad requiere un régimen basado en la cinética de la disponibilidad de los ingredientes activos en los lugares objetivo. Esto comporta la consideración de la distribución, equilibrio y eliminación de los ingredientes activos.

En casos de administración local o absorción selectiva, la concentración local efectiva de los peptidomiméticos de horquilla β de la invención puede no estar relacionada con la concentración en plasma. Un experto en la materia será capaz de optimizar terapéuticamente las dosificaciones locales efectivas sin indebida experimentación.

La invención se describirá a continuación en los ejemplos siguientes, que están destinados a ilustración solamente y

que no limitan el alcance de la invención en modo alguno.

Se utilizarán las siguientes abreviaturas:

5	Boc	<i>tert</i> -Butiloxicarbonilo;
	DIPEA:	Diisopropiletilamina;
	Fmoc	Fluorenilmetiloxicarbonilo;
	HATU:	O-(7-Aza-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato;
	HBTU:	O-(Benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato;
10	HCTU:	O-(6-Clorobenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato;
	HOAt	7-Aza-1-hidroxi benzotriazol;
	HOBt	1-Hidroxibenzotriazol;
	PyBop®	(Benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio hexafluorofosfato;
	TATU	O-(7-Aza-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato;
15	TBTU	2-(1H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio tetrafluoroborato;
	TIS	Triisopropilsilano;
	TPP	Trifenilfosfina;
	rt	Temperatura ambiente;
	RT	Tiempo de retención.

20

Ejemplos

1. Síntesis de péptidos

25 1.1 Procedimientos sintéticos generales

Se explicarán a título de ejemplo dos procedimientos generales, el procedimiento A y el procedimiento B, para la síntesis de los peptidomiméticos de la presente invención. Ello sirve para demostrar el concepto en principio y no limita ni restringe la presente invención en modo alguno. Un experto en la materia es capaz fácilmente de modificar estos procedimientos, especialmente, sin que ello sea limitativo, escoger una diferente posición de inicio dentro del sistema cíclico para conseguir la preparación de los compuestos peptidomiméticos cíclicos de la presente invención.

30

Acoplamiento del primer residuo de aminoácido protegido a la resina

35 Procedimiento A:

0,5 g de resina de 2-clorotritilcloruro (Barlos y otros Tetrahedron Lett. 1989, 30, 3943-3946) (1,4 mmol/g, 0,7 mmol) se llenaron en un recipiente seco. La resina fue suspendida en CH₂Cl₂ (2,5 ml) y se dejó hinchar a temperatura ambiente durante 30 minutos. La resina fue tratada con 0,43 mmol (0,6 eq) del primer residuo de aminoácido adecuadamente protegido o elemento componente dipéptido protegido (ver más adelante) y 488 µl (4eq) de diisopropiletilamina (DIPEA) en CH₂Cl₂ (2,5 ml), siendo agitada la mezcla a 25°C durante 4 horas. La resina fue lavada con CH₂Cl₂(1x), DMF (1x), CH₂Cl₂(1x), DMF(1x), CH₂Cl₂(2x). La resina fue agitada en 30 ml de CH₂Cl₂/MeOH/DIPEA (17:2:1) durante 30 minutos; a continuación fue lavada en el siguiente orden con CH₂Cl₂ (1x), DMF (1x), CH₂Cl₂ (1x), MeOH (1x), CH₂Cl₂ (1x), MeOH (1x), CH₂Cl₂ (2x), Et₂O (2x) y secada en vacío durante 6 horas.

45

Procedimiento B:

En un recipiente seco se efectúa el hinchado de resina 2-clorotritilcloruro (carga: 1,4 mmol/g) en CH₂Cl₂ seco durante 30 minutos (7 ml CH₂Cl₂ por g de resina). Se añade una solución de 0,8 eq de Fmoc-AA-OH y 6 eq de DIPEA in CH₂Cl₂/DMF seco (4/1) (10 ml por g de resina). Después de agitar durante 2-4 horas a temperatura ambiente la resina es filtrada y lavada sucesivamente con CH₂Cl₂, DMF, CH₂Cl₂, DMF y CH₂Cl₂. A continuación se añade una solución de CH₂Cl₂/MeOH/DIPEA (17:2:1) seca (10 ml por g de resina). Después de agitar durante 3 x 30 minutos la resina es filtrada en un embudo pre-pesado de sinterización y lavado sucesivamente con CH₂Cl₂, DMF, CH₂Cl₂, MeOH, CH₂Cl₂, MeOH, CH₂Cl₂(2x) y Et₂O (2x). La resina es secada en vacío elevado durante una noche. La masa final de la resina se calcula antes del control cualitativo.

55

Se prepararon las siguientes resinas precargadas: resina Fmoc-Tic-2-clorotritil, resina Fmoc-DPro-Tic-2-clorotritil, resina Fmoc-Oic-2-clorotritil, resina Fmoc-(4S)-Hyp(Bn)-2-clorotritil, resina Fmoc-Pro-2-clorotritil y resina Fmoc-Azt-2-clorotritil.

60

Síntesis del fragmento de péptido completamente protegido

La síntesis fue llevada a cabo en un sintetizador Syro-péptidos (MultiSynTech GmbH) utilizando de 24 a 96 recipientes de reacción. En cada recipiente se pusieron aproximadamente 60 mg (procedimiento A) u 80 mg (procedimiento B) de la resina anterior (peso de la resina antes de la carga). Se programaron y llevaron a cabo los

65

ciclos de reacción siguientes:

Procedimiento A:

Etapas	Reactivo	Tiempo
1	CH ₂ Cl ₂ , lavado e hinchado (manual)	1 x 3 min
2	DMF, lavado e hinchado	1 x 60 min
3	40 % piperidina/DMF	1 x 5 min y 1 x 15 min
4	DMF, lavado	5 x 1 min
5	5 equiv. Fmoc aminoácido/DMF + 5 eq. HCTU + 10 eq. DIPEA	2 x 60 min
6	DMF, lavado	5 x 1 min
7	CH ₂ Cl ₂ , lavado (al final de la síntesis)	3 x 1 min

5

Se repitieron las etapas 3 a 6 para añadir cada uno de los aminoácidos.

Procedimiento B:

Etapas	Reactivo	Tiempo
1	CH ₂ Cl ₂ , lavado e hinchado (manual)	1 x 3 min
2	DMF, lavado e hinchado	1 x 60 min
3	40 % piperidina/DMF	1 x 5 min y 1 x 15 min
4	DMF, lavado	5 x 1 min
5	3,5 equiv. Fmoc aminoácido/DMF + 3,5 eq. HCTU + 7 eq. DIPEA	2 x 60 min
6	DMF, lavado	5 x 1 min
7	CH ₂ Cl ₂ , lavado (al final de la síntesis)	3 x 1 min

10

Las etapas 3 a 6 se repiten para añadir cada uno de los aminoácidos.

Después de haber finalizado la síntesis del fragmento de péptido completamente protegido, se utilizaron para la preparación de los compuestos finales los procesos de fraccionamiento, ciclización y preparación que se describen a continuación.

15

Fraccionamiento, ciclización de núcleo y desprotección del péptido.

Después del ensamblado del péptido lineal la resina fue suspendida en 1 ml de 1% TFA en CH₂Cl₂ (v/v; 0,14 mmol) durante 3 minutos y se filtró, y el filtrado fue neutralizado con 1 ml de 20% DIPEA en CH₂Cl₂ (v/v; 1,15 mmol). Este procedimiento fue repetido cuatro veces para asegurar la terminación del fraccionamiento. La resina fue lavada tres veces con un 1 ml de CH₂Cl₂. Las capas de CH₂Cl₂ conteniendo producto fueron evaporadas hasta estado seco.

20

El péptido lineal completamente protegido fue solubilizado en 8 ml de DMF seco. Entonces se añadieron al péptido 2 eq. de HATU en DMF seco (1-2 ml) y 4 eq. de DIPEA en DMF seco (1-2 ml) seguido de agitación durante 16 h. Los volátiles fueron eliminados por evaporación. El péptido cíclico en crudo fue disuelto en 7 ml de CH₂Cl₂ y extraído tres veces con 4,5 ml de acetonitrilo al 10% en agua (v/v). Las capas de CH₂Cl₂ fueron evaporadas a estado seco.

25

Para desproteger el péptido por completo se añadieron 4-7 ml del cóctel de fraccionamiento TFA/TIS/H₂O (95:2.5:2.5) y la mezcla fue mantenida durante 2,5-4 h a temperatura ambiente hasta completar la reacción. La mezcla de reacción fue evaporada a estado seco y el péptido crudo fue disuelto en 7 ml de AcOH al 20% en agua (v/v) y extraído tres veces con 4 ml de diisopropil éter. La capa acuosa fue recogida y evaporada a estado seco y el residuo fue purificado por LC-MS de fase inversa preparativa.

30

Procedimiento de purificación (LC-MS de fase inversa preparativa)

Se purificaron los compuestos por cromatografía de fase inversa utilizando una columna Vydac 218MS, 30 x 150 mm (Cat N° 218MS103015), 10 µm o un XBridge Waters C18, 30 x 150 mm, 5 µm (Cat N° 186002982). Las fases móviles utilizadas fueron:

40

A: 0,1 % TFA en agua/acetonitrilo 95/5 v/v
B: 0,1 % TFA en acetonitrilo

Se adaptaron gradientes en las pasadas preparativas basadas en cada caso en análisis analítico LC-MS del crudo de síntesis. Como ejemplo, se llevó a cabo una pasada típica (purificación del **ejemplo 23**) con un caudal de 35

45

ml/min con un gradiente de 0-2 minutos 35% B, 7 minutos 55% B hasta un final de 9,3-12,6 minutos 100% B (tiempo de retención: 7,89 minutos en este caso).

Detección: MS y UV @ 220 nm

Las fracciones recogidas fueron evaporadas utilizando un evaporador Genevac HT4 o un sistema Büchi.

Alternativamente, para cantidades más grandes se utilizó el sistema siguiente de purificación LC:

Columna: Vydac 218MS, 10 µm, 50 x 150 mm

Fase móvil A: 0,1% TFA en agua

Fase móvil B: 0,1% TFA en acetonitrilo

Caudal: 150 ml/min

Detección: UV @ 220 nm

Después de liofilización, los productos fueron obtenidos de manera típica en forma de polvos de color blancuzco y fueron analizados por los procedimientos HPLC-ESI-MS que se describen a continuación. Los datos analíticos después de purificación por HPLC preparativa se muestran en la *tabla 1*.

1.2. Métodos analíticos

Método analítico A:

Los tiempos de retención de HPLC analítica (RT, en minutos) se determinaron utilizando una columna Gemini NX, 50 x 2,0 mm, (cod. 00B-4453-B0-Phenomenex) con los siguientes disolventes **A** (H₂O + 0,1% TFA) y **B** (CH₃CN + 0,1% TFA) y el gradiente: 0-0,1 min: 97% A, 3% B; 2,7 min: 3% A 97% B; 2,7-3 min: 3% A, 97% B; 3,05-3,3 min: 97% A, 3% B. Caudal = 0,8 ml/min.

Método analítico B:

Los tiempos de retención de HPLC analítica (RT, en minutos) se determinaron utilizando una columna XBridge C18, 50 x 2,0 mm, (cod. 186003084 - Waters) con los siguientes disolventes **A** (H₂O + 0,1% TFA) y **B** (CH₃CN + 0,1% TFA) y el gradiente: 0-0,05 min: 97% A, 3% B; 2,7 min: 3% A 97% B; 3-3,6 min: 3% A, 97% B; 3,6-4,3 min: 97% A, 3% B. Caudal = 0,5 ml/min.

Método analítico C:

Los tiempos de retención de HPLC analítica (RT, en minutos) se determinaron utilizando una columna UPLC BEH C18, 100 x 2,1 mm, (cod. 186002352 - Waters) con los siguientes disolventes **A** (H₂O + 0,1% TFA) y **B** (CH₃CN + 0,1% TFA) y el gradiente: 0-0,2 min: 99% A, 1% B; 4 min: 35% A 65% B; 4,05-4,2 min: 5% A, 95% B; 4,2-4,5 min: 99% A, 1% B. Caudal = 0,6 ml/min.

1.3 Síntesis de las secuencias de los péptidos

Los ejemplos 1 – 9, 12 – 24, 28 – 30 y 36 – 39 se muestran en la *Tabla 1*.

Los péptidos fueron sintetizados de acuerdo con el método general A empezando con el aminoácido (S)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico, que fue injertado a la resina (resina Fmoc-Tic-2-clorotritilo). Los péptidos lineales fueron sintetizados sobre el soporte sólido de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente en la siguiente secuencia: Resina-Tic-^DPro-P⁴-P³-P²-P¹. Separados de la resina, ciclizados, desprotegidos y purificados por LC-MS, de fase inversa preparativa, tal como se ha descrito anteriormente.

Después de la liofilización, los productos fueron obtenidos en forma de polvos de color blanco y caracterizados por HPLC-MS, método analítico A descrito anteriormente. Para datos analíticos, ver los **Ejemplos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 28, 29, 30, 36, 37, 38, 39** en la *Tabla 1*.

Los ejemplos 10, 11 y 31 – 35 se muestran en la *Tabla 1*.

Los péptidos fueron sintetizados de acuerdo con el método general A empezando con el ácido dipéptido (S)-2-((R)-pirrolidina-2-carbonil)-1,2,3,4-tetrahidroisoquinolin-3-carboxílico, que fue injertado a la resina (resina Fmoc-^DPro-Tic-2-clorotritilo). Los péptidos lineales fueron sintetizados sobre el soporte sólido de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente en la siguiente secuencia: Resina-Tic-^DPro-P⁴-P³-P²-P¹. Separados de la resina, ciclizados, desprotegidos y purificados por LC-MS, de fase inversa preparativa, tal como se ha descrito anteriormente.

Después de liofilización, los productos fueron obtenidos en forma de polvos de color blanco y caracterizados por HPLC-MS, método analítico A descrito anteriormente. Para datos analíticos, ver los **Ejemplos 10, 11, 31, 32, 33, 34, 35** en la *Tabla 1*.

Ejemplo 25 se muestra en la *Tabla 1*.

El péptido fue sintetizado de acuerdo con el método general A empezando con el aminoácido (S)-1,2,3,4-

tetrahidroisoquinolin-1-carboxílico, que fue injertado en la resina (resina Fmoc-Tiq-2-clorotritilo). El péptido lineal fue sintetizado sobre el soporte sólido, de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente en la siguiente secuencia: Resina-Tiq-^DPro-Arg-Trp-^DPhe-Trp. El producto fue separado de la resina ciclizado, desprotegido y purificado por LC-MS de fase inversa preparativa, tal como se ha descrito anteriormente.

- 5 Después de liofilización, el producto fue obtenido en forma de polvo blanco y se caracterizó por HPLC-MS, método analítico A, tal como se ha descrito anteriormente. Para datos analíticos, ver **Ejemplo 25** en la *Tabla 1*.

Ejemplo 26 se muestra en la *Tabla 1*.

- 10 El péptido fue sintetizado de acuerdo con el método general A empezando con el aminoácido (S)-(2S,3aS, 7aS)-1-octahidro-1*H*-indole-2-carboxílico, que fue injertado a la resina (resina Fmoc-Oic-2-clorotritilo). El péptido lineal fue sintetizado sobre el soporte sólido, de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente en la siguiente secuencia: Resina-Oic-^DPro-Arg-Trp-^DPhe-Trp. El producto protegido fue separado de la resina, ciclizado, desprotegido y purificado por LC-MS de fase inversa preparativa, tal como se ha descrito anteriormente.

- 15 Después de liofilización, el producto fue obtenido en forma de polvo blanco y se caracterizó por HPLC-MS, método analítico A, tal como se ha descrito anteriormente.

Después de liofilización, el producto fue obtenido en forma de polvo blanco y se caracterizó por HPLC-MS, método analítico A, tal como se ha descrito anteriormente. Para datos analíticos, ver **Ejemplo 26** en la *Tabla 1*.

- 20 **Ejemplo 27** se muestra en la *Tabla 1*.

El péptido fue sintetizado de acuerdo con el método general A empezando con el aminoácido (2S, 4S)-4-(benciloxi)pirrolidina-2-carboxílico que fue insertado en la resina (resina Fmoc-(4S)-Hyp(Bn)-2-clorotritilo). El péptido lineal fue sintetizado sobre el soporte sólido de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente en la siguiente secuencia: Resina-(4S)-Hyp(Bn)-^DPro-Arg-Trp-^DPhe-Trp. El producto fue separado de la resina, ciclizado, desprotegido y purificado por LC-MS de fase inversa preparativa, tal como se ha descrito anteriormente.

- 25 Después de liofilización, el producto fue obtenido en forma de polvo blanco y fue caracterizado por HPLC-MS, método analítico A, tal como se ha descrito anteriormente. Para datos analíticos, ver el **Ejemplo 27** en la *Tabla 1*.

- 30 **Ejemplos 40 y 41** se muestran en la *Tabla 1*.

Los péptidos fueron sintetizados de acuerdo con el método general A empezando del aminoácido L-prolina, que fue injertado a la resina (resina Fmoc-Pro-2-clorotritilo). Los péptidos lineales fueron sintetizados sobre el soporte sólido, de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente en la secuencia siguiente: Resina-Pro-T¹-P⁴-P³-P²-P¹. Los productos fueron separados de la resina, ciclizados, desprotegidos y purificados por LC-MS de fase inversa preparativa, tal como se ha descrito anteriormente.

- 35 Después de liofilización, los productos fueron obtenidos en forma de polvos blancos y caracterizados por HPLC-MMS, método analítico A, tal como se ha descrito anteriormente. Para datos analíticos, ver los **Ejemplos 40, 41** en la *Tabla 1*.

- 40 **Ejemplos 42-51** se muestran en la *Tabla 1*.

Los péptidos fueron sintetizados de acuerdo con el método general A empezando con el aminoácido L-acetidina-2-carboxílico, que fue injertado en la resina (resina Fmoc-Azt-2-clorotritilo). Los péptidos lineales fueron sintetizados sobre el soporte sólido, de acuerdo con el procedimiento descrito anteriormente con la secuencia siguiente: Resina-Azt-^DPro-P⁴-P³-P²-P¹. Los productos fueron separados de la resina, ciclizados, desprotegidos y purificados por LC-MS de fase inversa preparativa, tal como se ha descrito anteriormente.

- 45 Después de liofilización, los productos fueron obtenidos en forma de polvos de color blanco a blancuzco y caracterizados por HPLC-MS, método analítico A, tal como se ha descrito anteriormente. Para datos analíticos, ver los **Ejemplos 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51** en la *Tabla 1*.

1.4 Datos de secuencia

Tabla 1: Ejemplos

Ej.	ID Secuencia	P1 ^{a)}	P2 ^{a)}	P3 ^{a)}	P4 ^{a)}	T1 ^{a)}	T2 ^{a)}	Método sintético	Pureza % ^{b)}	[M+H] ⁺	RT ^{c)}	Método analítico
1	SEQ ID NO:1	Ala	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	97	817,4	1,80	A
2	SEQ ID NO:2	Phe	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	92	893,3	1,95	A
3	SEQ ID NO:3	His	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	92	883,4	1,56	A
4	SEQ ID NO:4	His(Me)	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	92	897,4	1,56	A
5	SEQ ID NO:5	Tyr	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	91	909,3	1,81	A
6	SEQ ID NO:6	Arg	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	96	902,5	1,57	A
7	SEQ ID NO:7	1Nal	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	94	943,4	2,04	A
8	SEQ ID NO:8	2Nal	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	B	89	944,3	2,04	A
9	SEQ ID NO:9	Trp	D ³ Phe	Trp	Arg	DPro	Tic	A	>98	932,5	1,93	A
10	SEQ ID NO:10	Trp	D ³ Trp	Trp	Arg	DPro	Tic	A	91	971,5	1,90	A
11	SEQ ID NO:11	Trp	D ³ His	Trp	Arg	DPro	Tic	A	95	922,6	1,56	A
12	SEQ ID NO:12	Trp	D ³ Ile	Trp	Arg	DPro	Tic	B	88	898,4	1,88	A
13	SEQ ID NO:13	Trp	D ³ Arg	Trp	Arg	DPro	Tic	A	95	1055,7 ^{d)}	1,55	A
14	SEQ ID NO:14	Trp	D ³ Orn	Trp	Arg	DPro	Tic	A	95	899,5	1,93	B
15	SEQ ID NO:15	Trp	D ³ Phe	Phe	Arg	DPro	Tic	B	93	893,3	1,93	A
16	SEQ ID NO:16	Trp	D ³ Phe	Tyr	Arg	DPro	Tic	B	86	909,3	1,82	A
17	SEQ ID NO:17	Trp	D ³ Phe	2Nal	Arg	DPro	Tic	B	87	944,3	2,02	A
18	SEQ ID NO:18	Trp	D ³ Phe	Ile	Arg	DPro	Tic	B	92	859,3	1,89	A
19	SEQ ID NO:19	Trp	D ³ Phe	Arg	Arg	DPro	Tic	B	96	902,4	1,64	A
20	SEQ ID NO:20	Trp	D ³ Phe	Trp	Lys	DPro	Tic	B	89	904,4	1,90	A
21	SEQ ID NO:21	Trp	D ³ Phe	Trp	Orn	DPro	Tic	B	94	890,4	1,88	A
22	SEQ ID NO:22	Trp	D ³ Phe	Trp	Dab	DPro	Tic	B	76	876,4	1,90	A
23	SEQ ID NO:23	Trp	D ³ Phe	Trp	His	DPro	Tic	B	88	913,4	1,91	A
24	SEQ ID NO:24	Trp	D ³ Phe	Trp	Tyr	DPro	Tic	B	96	939,3	2,23	A

(continuación)

Ej.	ID Secuencia	P1a)	P2a)	P3a)	P4a)	T1a)	T2a)	Método sintético	Pureza % b)	[M+H] ⁺	RT ^{c)}	Método analítico
25	SEQ ID NO:25	Trp	Dphe	Trp	Arg	DPro	Tiq	B	74	932,4	1,94	A
26	SEQ ID NO:26	Trp	Dphe	Trp	Arg	DPro	Oic	B	92	924,4	1,90	A
27	SEQ ID NO:27	Trp	Dphe	Trp	Arg	DPro	(4S)-Hyp(Bn)	B	95	976,4	1,93	A
28	SEQ ID NO:28	1Nal	DArg	Trp	Arg	DPro	Tic	B	92	952,5	1,67	A
29	SEQ ID NO:29	1Nal	DHis	Ile	Arg	DPro	Tic	B	82	860,3	1,63	A
30	SEQ ID NO:30	Abu	DArg	Arg	Trp	DPro	Tic	B	>98	840,4	1,65	A
31	SEQ ID NO:31	His	DTrp	His	Arg	DPro	Tic	A	93	873,5	1,28	A
32	SEQ ID NO:32	Ile	DHis	Trp	Arg	DPro	Tic	A	95	849,2	1,45	C
33	SEQ ID NO:33	Ile	DArg	Ile	Arg	DPro	Tic	A	37	909,3 ^{d)} do	1,49	A
34	SEQ ID NO:34	Ile	DTrp	His	Arg	DPro	Tic	A	95	849,3	1,57	C
35	SEQ ID NO:35	Arg	DTrp	His	Arg	DPro	Tic	A	95	1006,5 ^{d)}	1,29	A
36	SEQ ID NO:36	Arg	DHis	Trp	Arg	DPro	Tic	A	95	892,4	1,30	A
37	SEQ ID NO:37	Trp	DArg	His	Arg	DPro	Tic	A	91	892,4	1,38	C
38	SEQ ID NO:38	Trp	DArg	His	Trp	DPro	Tic	A	93	922,6	1,72	A
39	SEQ ID NO:39	His	D ¹ Nal	His	Trp	DPro	Tic	A	95	914,5	1,57	A
40	SEQ ID NO:40	Trp	Dphe	Trp	Arg	DTic	Pro	B	95	932,4	1,90	A
41	SEQ ID NO:41	Trp	Dphe	Trp	Arg	DPip	Pro	B	95	884,4	1,82	A
42	SEQ ID NO:42	1Nal	DHis	Ile	Arg	DPro	Azt	A	97	784,3	1,47	A
43	SEQ ID NO:43	1Nal	DArg	Ile	Arg	DPro	Azt	B	>98	803,4	1,48	A
44	SEQ ID NO:44	1Nal	DArg	Trp	Arg	DPro	Azt	B	97	876,4	1,50	A
45	SEQ ID NO:45	1Nal	DHis	Tyr	Arg	DPro	Azt	B	>98	834,3	1,42	A
46	SEQ ID NO:46	Trp	DArg	Trp	Ile	DPro	Azt	A	95	822,5	1,93	A
47	SEQ ID NO:47	Trp	DHis	Ile	Arg	DPro	Azt	A	95	773,4	1,31	A
48	SEQ ID NO:48	Trp	DHis	Trp	Arg	DPro	Azt	A	95	847,7	1,37	A
49	SEQ ID NO:49	Trp	DThr	Tyr	Arg	DPro	Azt	A	95	787,3	1,27	C

(continuación)

Ej.	ID Secuencia	P1 ^{a)}	P2 ^{a)}	P3 ^{a)}	P4 ^{a)}	T1 ^{a)}	T2 ^{a)}	Método sintético	Pureza % b)	[M+H] ⁺	RT ^{c)}	Método analítico
50	SEQ ID NO:50	Trp	DArg	Ile	Arg	DPro	Azt	A	95	906,6 ^{d)}	1,43	A
51	SEQ ID NO:51	Trp	DArg	Trp	Arg	DPro	Azt	A	95	979,6 ^{d)}	1,46	A

a) Para abreviaturas de aminoácidos ver lista anterior.
b) %- pureza de compuestos después de HPLC preparativa.
c) Tiempo de retención con el método aplicado.
d) [M+TFA+H]⁺

2. Métodos biológicos

2.1 Preparación de las muestras de péptidos.

- 5 Se pesaron los péptidos liofilizados en una microbalanza (Mettler MX5) y se disolvieron en DMSO hasta una concentración final de 10 mM si no se indica de otra manera. Las soluciones se mantuvieron a +4°C, y se protegieron contra la luz.

2.2 Ensayo de reclutamiento de arrestina-β de CXCR7

- 10 El ensayo PathHunter CHO-CXCR7 (DiscoverX) fue llevado a cabo de acuerdo con el protocolo del fabricante. De manera simple, las células CHO CXCR7 arrestina-β fueron sembradas a la densidad de 5000 células por pocillo en 40μl de medio F12 en una placa de cultivo de 96 medios volúmenes y se incubó durante una noche a 37°C en atmósfera humidificada con 5% CO₂. Al día siguiente, se han preparado diluciones serie de compuestos PEM en
15 DMSO y, a continuación, se han diluido en HBSS tampón conteniendo 0,1% BSA.

- Para ensayo agonístico, se añadieron 10 μl de solución de compuesto de una solución de factor 1 (SDF-1) derivado de células estromales, control positivo a las células con una concentración final de DMSO de 1% (v/v). La placa fue incubada durante 90 minutos a 37°C en 5% de CO₂. En el incubador con agitación suave (300 rpm) antes de adición
20 de 40μl de reactivo de detección por pocillo. La reacción fue desarrollada a 90 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación, y se midió la quimioluminiscencia con un contador de luminiscencia Topcount (Perkin Elmer).

2.3 Resultados

25

Tabla 2: Resultados biológicos

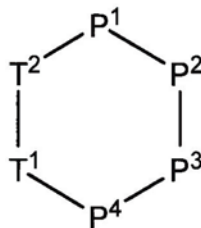
Ej.	ID Secuencia	Arrestina-β EC ₅₀ [nM]
1	SEQ ID NO:1	163,4 ± 40,9
2	SEQ ID NO:2	22,5 ± 13,7
3	SEQ ID NO:3	32,1 ± 3,9
4	SEQ ID NO:4	32,5 ± 3,9
5	SEQ ID NO:5	11,5 ± 9,0
6	SEQ ID NO:6	12,8 ± 4,5
7	SEQ ID NO:7	61,6 ± 1,6
8	SEQ ID NO:8	8,9 ± 5,8
9	SEQ ID NO:9	4,8 ± 4,4
10	SEQ ID NO:10	64,9 ± 113,2
11	SEQ ID NO:11	203,7 ± 8,1
12	SEQ ID NO:12	63,4 ± 20,6
13	SEQ ID NO:13	128,0 ± 32,5
14	SEQ ID NO:14	111,0 ± 75,4
15	SEQ ID NO:15	75,7 ± 41,5
16	SEQ ID NO:16	326,1 ± 99,8
17	SEQ ID NO:17	16,9 ± 7,3
18	SEQ ID NO:18	147,8 ± 96,8
19	SEQ ID NO:19	178,4 ± 102,1
20	SEQ ID NO:20	16,5 ± 8,0
21	SEQ ID NO:21	12,1 ± 2,5

(continuación)

Ej.	ID Secuencia	Arrestina- β EC ₅₀ [nM]
22	SEQ ID NO:22	12,6 $\pm$ 1,6
23	SEQ ID NO:23	18,3 $\pm$ 17,6
24	SEQ ID NO:24	94,5 $\pm$ 54,1
25	SEQ ID NO:25	0,4 $\pm$ 0,0
26	SEQ ID NO:26	0,8 $\pm$ 0,5
27	SEQ ID NO:27	1,7 $\pm$ 1,1
28	SEQ ID NO:28	279,6 $\pm$ 114,8
29	SEQ ID NO:29	346,6 $\pm$ 109,8
30	SEQ ID NO:30	97,5 $\pm$ 6,3
31	SEQ ID NO:31	225,7 $\pm$ 13,2
32	SEQ ID NO:32	70,8 $\pm$ 14,3
33	SEQ ID NO:33	34,3 $\pm$ 3,6
34	SEQ ID NO:34	317,0 $\pm$ 359,7
35	SEQ ID NO:35	233,8 $\pm$ 131,5
36	SEQ ID NO:36	143,5 $\pm$ 136,4
37	SEQ ID NO:37	348,3 $\pm$ 55,6
38	SEQ ID NO:38	216,9 $\pm$ 12,5
39	SEQ ID NO:39	268,8 $\pm$ 80,1
40	SEQ ID NO:40	83,6 $\pm$ 22,7
41	SEQ ID NO:41	78,7 $\pm$ 0,9
42	SEQ ID NO:42	85,7 $\pm$ 76,6
43	SEQ ID NO:43	41,2 $\pm$ 8,3
44	SEQ ID NO:44	145,6 $\pm$ 81,8
45	SEQ ID NO:45	44,4 $\pm$ 25,4
46	SEQ ID NO:46	207,5 $\pm$ 50,2
47	SEQ ID NO:47	344,5 $\pm$ 0,6
48	SEQ ID NO:48	341,5 $\pm$ 46,8
49	SEQ ID NO:49	147,7 $\pm$ 33,4
50	SEQ ID NO:50	47,7 $\pm$ 21,9
51	SEQ ID NO:51	169,9 $\pm$ 22,5

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de fórmula general (I)



(I)

en la que los elementos individuales T o P son aminoácidos, o residuos de aminoácidos, que están conectados desde el punto de carbonilo (C=O) de fijación al nitrógeno (N) del siguiente elemento en la dirección de las agujas del reloj, en la que dichos elementos están conectados para formar péptidos cíclicos seleccionados entre

ciclo(-Ala-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Phe-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His(Me)-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Tyr-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Arg-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-1Nal-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-2Na1-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DTrp-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DIle-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DArg-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DOm-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Phe-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Tyr-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-2Nal-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Ile-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Arg-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Lys-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Om-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Dab-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-His-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Tyr-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tiq-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-(4S) -Hyp (Bn) -);
 ciclo(-1Nal-^DArg-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-1Nal-^DHis-Ile-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Abu-^DArg-Arg-Trp-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His-^DTrp-His-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Ile-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Ile-^DHis-Ile-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Ile-^DTrp-His-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Arg-^DTrp-His-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Arg-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DArg-His-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DArg-His-Trp-^DPro-Tic-);
 ciclo(-His-^D1Nal-His-Trp-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPip-Pro-);
 ciclo(-1Nal-^DHis-Ile-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-1Nal-^DArg-Ile-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-1Nal-^DArg-Trp-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-1Nal-^DHis-Tyr-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DArg-Trp-Ile-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DHis-Ile-Arg-^DPro-Azt-);

ciclo(-Trp-^DHis-Trp-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DThr-Tyr-Arg-^DPro-Azt-);
 ciclo(-Trp-^DArg-Ile-Arg-^DPro-Azt-);
 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 5 2. Compuestos, según la reivindicación 1, seleccionados entre
 ciclo(-Tyr-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Arg-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 ciclo(-2Nal-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tic-);
 10 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Om-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Dab-^DPro-Tic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Tiq-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-Oic-);
 ciclo(-Trp-^DPhe-Trp-Arg-^DPro-(4S)-Hyp(Bn)-);
 15 ciclo(-Ile-^DArg-Ile-Arg-^DPro-Tic-);
 y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
3. Compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2, para su utilización como sustancias terapéuticamente activas.
- 20 4. Compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2, para su utilización como sustancias terapéuticamente activas contra enfermedades o trastornos mediados o sostenidos por la actividad de CXCR7.
5. Compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2, que tienen actividad moduladora contra el receptor CXCR7.
- 25 6. Compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2, que interfieren selectivamente con la actividad natural del receptor CXCR7 y sus ligandos naturales CXCL11 y/o CXCL12.
7. Composición farmacéutica, que contiene un compuesto o una mezcla de compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2 y un portador farmacéuticamente inerte.
- 30 8. Composiciones, según la reivindicación 7, en forma adecuada para administración oral, tópica, transdérmica, inyección, bucal, transmucosal, rectal, pulmonar o inhalación, especialmente en forma de tabletas, pastillas, cápsulas, soluciones, líquidos, geles, emplastos, ungüentos, jarabe, emulsiones, suspensiones, pulverizaciones, nebulizador o supositorio.
- 35 9. Utilización de compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento, prevención o tratamiento de soporte de enfermedades o estados relacionados con la actividad de CXCR7 en el área de trastornos dermatológicos, enfermedades metabólicas, enfermedades inflamatorias, enfermedades fibróticas, enfermedades infecciosas, enfermedades neurológicas, enfermedades cardiovasculares,
- 40 enfermedades, enfermedades respiratorias, trastornos del tracto gastrointestinal, enfermedades urológicas, enfermedades oftálmicas, enfermedades estomatológicas, enfermedades hematológicas y oncología, o la movilización de células madre.
- 45 10. Utilización de compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento, prevención o tratamiento de soporte de enfermedades o estados relacionados con la actividad de CXCR7, especialmente seleccionadas entre infecciones HIV, infección del virus de Epstein-Barr, conjuntivitis, escleritis, uveitis, síndrome de ojo seco, síndrome de Sjögren, glaucoma, degeneración macular relacionada con la edad, rinosinusitis, síndrome de Whim, lupus eritematosus, hipertensión pulmonar, hipoxia pulmonar, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, osteoartritis, artritis reumatoide, sinovitis, psoriasis, esclerosis múltiple, diabetes mellitus, enfermedad de Chron, enfermedad de tejidos conectivos mixtos, tioriditis linfocítica crónica, enfermedad de Grave, enfermedad de injerto contra huésped, aterosclerosis, miocarditis, fallo cardíaco, tal como infarto de miocardio; angiogénesis, sarcoma, tal como osteosarcoma, rabdomiosarcoma, sarcoma de Kaposi, sarcoma sinovial; lipoma, tal como angioliopoma; glioblastoma multiforme, astrocitomas, metastasis, neuroblastoma; carcinoma, tal como adenocarcinoma; neoplasmas malignos epiteliales y mucoepidermoides, neoplasma de tiroides,
- 50 neoplasmas gonadales, cáncer de próstata, cáncer de seno, melanoma, carcinoma de pulmón, carcinoma pancreático, cáncer colorrectal; tumores sólidos; linfoma, tal como linfoma de Birkitt, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin; mieloma múltiple y leucemia; para movilización de células madre o células madre de sangre periférica y/o células madre mesenquimales; o para diferentes tipos de reparación de tejidos en humanos u otros mamíferos.
- 55 11. Procedimiento para la preparación de compuestos, según las reivindicaciones 1 ó 2, que comprende
 - (a) acoplar un soporte sólido apropiadamente funcionalizado con un derivado apropiadamente N-prottegido del aminoácido que en el producto final deseado, se encuentra en posición T¹ o T² o P¹ a P⁴, tal como se ha definido anteriormente; cualquier grupo funcional que puede encontrarse presente en dicho derivado de aminoácido N-prottegido encontrándose igualmente protegido de manera apropiada;
 - 65 (b) retirar el grupo N-protector del producto obtenido en la etapa (a);

- 5 (c) acoplar el producto obtenido de este modo con el derivado apropiadamente N-protegido de dicho aminoácido, que en el producto final deseado se encuentra en la posición del siguiente elemento (T o P), siguiendo en sentido contrario a las agujas del reloj, la secuencia, de acuerdo con la fórmula general **(I)** en orientación -COOH a -NH²; encontrándose igualmente protegido de manera apropiada cualquier grupo funcional que puede encontrarse presente en dicho derivado de aminoácido N-protegido;
- (d) retirar el grupo N-protector del producto obtenido;
- (e) repetir las etapas (c) y (d) hasta que se han introducido todos los residuos de aminoácidos;
- 10 (f) en caso deseado, desproteger selectivamente uno o varios grupos funcionales protegidos presentes en la molécula y sustituir de manera apropiada los grupos reactivos liberados de esta forma;
- (g) separar el producto obtenido del soporte sólido;
- (h) ciclicizar el producto separado del soporte sólido;
- (i) retirar cualesquiera grupos protectores presentes en grupos funcionales de cualesquiera miembros de la cadena de residuos de aminoácidos, en caso deseado, cualesquiera grupos protectores que se pueden encontrar adicionalmente presentes en la molécula; y
- 15 (j) en caso deseado, implementar las transformaciones químicas adicionales de uno o varios grupos reactivos presentes en la molécula;
- (k) en caso deseado, convertir el producto obtenido de esta forma en una sal farmacéuticamente aceptable o convertir una sal farmacéuticamente aceptable, o inaceptable, obtenida de este modo en un compuesto correspondiente libre de fórmula **(I)** o en una sal farmacéuticamente aceptable distinta.