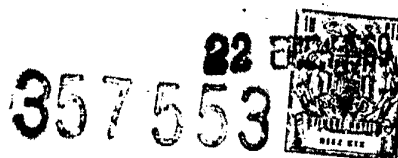


PATENTE DE INVENCION

SC. 3208/3291. Cas. B.



Memoria Descriptiva

sobre:

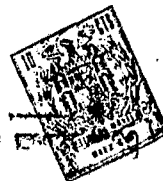
"Procedimiento para la preparación de nuevos ciclopeptidos"

Solicitante RHONE-POULENC S.A.,
entidad francesa, residente en
22 Avenue Montaigne, Paris 8e, Francia.

La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de nuevos ciclopeptidos de fórmula general:

R' - ciclopeptido A (I)

5. en forma de base, sales de adición con los ácidos,



o de sales de amonio cuaternario.

En la fórmula (I), el significado de los diferentes símbolos es el siguiente:

- 5. - ciclopeptido A representa un resto de nonapeptido cuya estructura más probable responde a la fórmula (II) dada en el anexo y en la que:
 - MePro significa : L transmetil-4-prolina
 - MeThr significa : L N-metiltreonina
 - MeVal significa : L N-metilvalina
 - 10. MeLeu significa : D N-metil leucina
 - Pro significa : L prolina
 - Gly significa : glicocola
 - Leu significa : L leucina
 - Thr significa : L treonina
- 15. - R' representa un radical acilo elegido entre los radicales alcanilo, alquenoilo, alcadienoilo, alquiloxicarbonilo, aralcanilo, arilo, arilsulfenilo, arilsulfenilo, arilsulfonilo, cicloalquilocarbonilo, heterociclilcarbonilo, heterociclilalcanilo o resto de radical peptídico lineal o cíclico enlazado por un grupo carbonilo al átomo de nitrógeno de la L transmetil-4 prolina de la cadena lateral del ciclopeptido A.
 - 20. En lo que antecede:
 - Las porciones alquilos alquenos o alcadienos
 - 25. de los radicales alcanilos, alquenos, alcadienos aralcanilos o heterociclilalcanilos son de cadena recta o ramificada que contienen de 1 a 50 átomos de carbono eventualmente sustituidos por uno ó varios átomos de halógeno o radicales amino o alquiltio que
 - 30. contienen de 1 a 5 átomos de carbono.



5. - Las porciones alquilos de los radicales alquiloxi-carbonilos contienen de 1 a 15 átomos de carbono y pueden estar sustituidas por un radical dialquilamino, cuyas porciones alquilos contienen cada una de 1 a 5 átomos de carbono.
10. - Las porciones aromáticas de los radicales aralcanoilos, aroilos, arilsulfenilos, arilsulfinitos o arilsulfonilos representan un anillo bencénico o naftalénico eventualmente sustituido por uno ó varios radicales alquilos, hidroxilos, benzoilos, amino, dialquilamino, alcancilamino, o nitro, conteniendo los radicales alquilos y las porciones alquilo de los diferentes radicales de 1 a 12 átomos de carbono.
15. - Las porciones heterocíclicas de los radicales heterocíclicarbonilos, o heterocíclicalcanoilos representan heterociclos mono- o poli-nucleares que contienen uno o varios heteroátomos elegidos del grupo de los átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre y eventualmente sustituidos por uno o varios radicales alquilos o nitro.
20. - Las porciones cicloalcoilos de los radicales cicloalquilcarbonilos representan radicales cicloalquilos de 5 ó 6 miembros, eventualmente sustituidos por uno o varios radicales amino.
25. - Los restos de radicales peptídicos, lineales o cíclicos contienen de 2 a 15 aminoácidos.
30. - Los radicales amino que sustituyen las porciones alquilos, alquenilos o cicloalquilos de los radicales definidos anteriormente y las funciones aminas de los radicales peptídicos lineales o cíclicos pueden estar eventualmente sustituidos por uno o varios radicales



alquilos, alcanosilos, aralcoilos, alquiloxicarbonilos, aralquiloxicarbonilos ó alquilojaralquiloicarbonilos, los radicales alquilos y las porciones alquilos de los restantes radicales contienen de 1 a 30 átomos de carbono.

5.

Según la invención los productos de fórmula general (I) se obtienen a partir del ciclopeptido A por condensación de un ácido R'OH o de un derivado de este ácido activado por cualquier método conocido y empleado en química de peptidos.

10.

El ciclopeptido A a su vez (siendo P' reemplazado por un átomo de hidrógeno) puede obtenerse por hidrólisis practicada en el antibiótico 11.072 RP, cuya preparación se describe en la patente francesa 1.393.208. Se ha determinado después que este antibiótico posee la estructura probable (III) dada en el anexo. El antibiótico 11.072 RP puede hidrolizarse a ciclopeptido A por un ácido mineral u orgánico, en solución en un disolvente orgánico. Preferentemente se utiliza el metanol clorhídrico anhidro. La reacción se efectúa a una temperatura próxima a 20°C; es completa después de dos horas aproximadamente.

15.

20.

Como métodos de condensación, se puede mencionar, porejemplo, los métodos que utilizan una carbodiimida, tal como la dicitclohexilcarbodiimida, el método de la azida, el método de los ésteres activados, el método del anhídrido mixto y el método de los cloruros de ácido.

25.

30.

En estos métodos, los grupos funcionales



22 FEB 1959

libres que no deben participar en la reacción se protegen ventajosamente por grupos susceptibles de ser eliminados a continuación por operaciones que, por otra parte, no tienen acción sobre el resto de la molécula.

5.

Generalmente se utilizan restos que pueden eliminarse por hidrólisis o por reducción. El grupo amina se protege preferentemente por grupos alquiloxicarbonilos, tales como terciobutiloxicarbonilo, aralquiloxicarbonilos, tales como benciloxicarbonilo, o aralquilos, tales como bencilo.

10.

Más particularmente si se utiliza un ácido de fórmula general:



15.

en la que R'' se define como R' pero que no puede representar un radical alquiloxicarbonilo, arilsulfenilo, arilsulfínilo o arilsulfonilo, la reacción se efectúa en un disolvente orgánico tal como el acetato de etilo, la dimetilformamida, el acetonitrilo o el cloruro de metileno a una temperatura comprendida entre 0 y 30°C en presencia de una carbodiimida tal como la dicitclohexilcarbodiimida.

20.

Más particularmente, si se utiliza una azida de fórmula general:

25.



en la que R'' se define como anteriormente, la reacción se efectúa en un disolvente orgánico tal como el acetato de etilo eventualmente en presencia de una base orgánica tal como la trietilamina y a una temperatura comprendida entre - 15 y + 25°C.

30.



Las azidas de fórmula general (V) se preparan generalmente por acción de un nitrito alcalino sobre la hidrazida correspondiente en medio ácido .

Más particularmente, si se utiliza un éster activado de fórmula general:

5.



en la que R'' se define como anteriormente y X representa un resto de fenol o de heterociclo nitrogenado N-hidroxilado, que activa el grupo carbonilo al cual

10.

está enlazado, tal como la N-hidroxisuccinimida, el p.nitrofenol, el tricloro-2,4,5 fenol o la hidroxil piperidina, la reacción se efectúa en un disolvente orgánico tal como el acetato de etilo o la dimetilformamida en presencia de una carbodiimida tal como la

15.

diciclohexilcarbodiimida a una temperatura comprendida entre -15 y +25°C en presencia, eventualmente, de una base orgánica tal como la trietilamina.

Los ésteres activados se preparan generalmente in situ según los métodos habituales.

20.

Más particularmente, si se utiliza un anhídrido de ácido de fórmula general:



en la que R'' se define como anteriormente y R₁ representa un radical alquilo que contiene de 1 a 5 átomos

25.

de carbono, la reacción se efectúa en un disolvente orgánico tal como el cloruro de metileno a una temperatura comprendida entre -15 y +20°C, eventualmente en presencia de una base orgánica tal como la trietilamina.

30.

El anhídrido mixto de fórmula general (VII)



se prepara generalmente in situ por acción de un cloroformiato de alquilo, tal como el cloroformiato de etilo o de isobutilo, sobre un ácido de fórmula general (IV) en un disolvente orgánico tal como el cloruro de metileno, en presencia de una base orgánica tal como la trietilamina y a una temperatura próxima a - 10°C.

5.

Más particularmente, si se utiliza un cloruro de ácido de fórmula general:



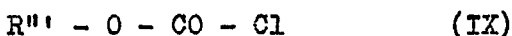
10.

en la que R'' se define como anteriormente, la reacción se efectúa en un disolvente orgánico tal como el cloruro de metileno eventualmente en presencia de una base orgánica tal como la trietilamina y a una temperatura comprendida entre -15 y + 25°C.

15.

Más particularmente, cuando R' representa un radical alquilo carbonilo eventualmente sustituido definido como anteriormente, se hace reaccionar sobre el ciclopeptido A un cloroformiato de fórmula general:

20.



en la que R''' representa un radical alquilo que contiene de 1 a 15 átomos de carbono eventualmente sustituido por un radical dialquilamino que contienen en cada porción alquilo de 1 a 5 átomos de carbono, en un disolvente orgánico tal como cloruro de metileno en presencia de una base orgánica tal como la trietilamina y a una temperatura comprendida entre -15 y +30°C.

25.

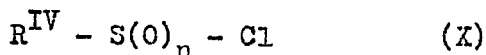
Más particularmente cuando R' representa

30.

un radical arilsulfenilo, arilsulfínilo o arilsulfonilo



definido como anteriormente, se hace reaccionar sobre el ciclopeptido A un producto de fórmula general:



en la que R^{IV} es un anillo bencénico o naftalénico

- 5. eventualmente sustituido por uno o varios radicales alquilos, amino, dialquilamino, alcanoilamino o nitro y n representa 0,1 ó 2, en un disolvente orgánico tal como el acetato de etilo o el cloruro de metileno en presencia de una base orgánica tal como la trietilamina
- 10. y a una temperatura comprendida entre -15 y +20°C.

Una variante consiste en hacer reaccionar un ácido o un derivado de ácido de fórmula (IV), (V), (VI), (VII) u (VIII), sobre un ciclopeptido de fórmula general (XI) dada en el anexo y en la cual R^{II} representa un radical alcanoilu cuya porción alquilo contiene de 1 a 30 átomos de carbono o un resto de péptido lineal o cíclico que contiene de 2 a 15 aminoácidos, y R₂ y R₃, idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o un radical alquilo que contiene de 1 a 5 átomos de carbono, en las condiciones descritas más arriba.

- 15.
- 20.

Cuando, en los procedimientos descritos anteriormente, los radicales R^{II}, R^{III} y R^{IV} de los compuestos (IV), (V), (VI), (VII), (VIII), (IX) ó (X) comprenden grupos protectores se proceden a continuación a la eliminación de estos grupos protectores por aplicación de los métodos habituales tales como la hidrogenación catalítica o la hidrólisis ácida.

- 25.

Los nuevos productos de fórmula general

- 30. (I) pueden purificarse eventualmente por métodos físi-



cos (tales como la cromatografía) o químicos (tales como formación de las sales solubles en agua, filtración y liofilización de la solución obtenida, después descomposición del producto obtenido).

5. Los nuevos productos según la invención pueden transformarse en sales de adición de ácido o en sales de amonio cuaternario según la naturaleza del sustituyente - R'.

10. Las sales de adición pueden obtenerse por acción de los nuevos compuestos sobre ácidos en un disolvente apropiado. Generalmente se solubiliza la base en agua por adición de la cantidad teórica de ácido y se liofiliza la solución obtenida.

15. Las sales de amonio cuaternario pueden obtenerse por acción de los nuevos compuestos sobre ésteres, eventualmente en un disolvente orgánico, a temperatura ambiente o más rápidamente por ligero calentamiento.

20. Los nuevos productos según la invención así como sus sales de adición y sus sales de amonio cuaternario presentan propiedades interesantes para la terapéutica: son agentes antibióticos, que tienen una actividad antituberculosa potente y además una buena actividad sobre los gérmenes gram-positivos y negativos.

25. Han dado buenos resultados en los ensayos de actividad antituberculosa in vitro e in vivo. Han inhibido la multiplicación de los bacilos tuberculosos virulentos (cepas humanas, tales como H₃₇R_v, cepa bovina y diferentes mutantes resistentes a ésta).
- 30.



La actividad in vitro se determina por el método de las diluciones en medio de Dubos. En estas condiciones la concentración mínima inhibidora de los productos está comprendida entre 0,005 y 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

5.

De un interés más particular son los productos de fórmula general (I) en la que R' representa un radical alcanilo o alquenoilo eventualmente sustituido por un radical amino o alquiltio o un radical peptídico lineal, los radicales amino pueden estar sustituidos como se ha indicado anteriormente.

10.

La actividad in vivo se determina en el caso de los ratones infectados experimentalmente y tratados durante tres semanas siguientes a la infección. Por comparación entre los tiempos de supervivencia de los ratones no tratados y tratados las dosis eficaces pueden determinarse; están comprendidas entre 50 y 300 mg/kg. p.o.

15.

Un interés más particular tienen los productos de fórmula general (I) en la que R' representa un radical alcanilo sustituido por un radical amino, o un radical peptídico lineal, los radicales amino pueden estar sustituidos como se indica anteriormente.

20.

Para el empleo medicinal, pueden usarse los nuevos compuestos, bien al estado de bases, bien al estado de sales de adición o de sales de amonio cuaternario farmacéuticamente aceptables, es decir no tóxicas a las dosis de utilización.

25.

30.

Como ejemplos de sales de adición farma-



5. céuticamente aceptables, pueden citarse sales de ácidos minerales (tales como los clorhidratos, sulfatos, nitratos, fosfatos) u orgánicos (tales como los acetatos, propionatos, succinatos, benzoatos, fumaratos, maleatos, tartratos, metanosulfonatos, bencenosulfonatos, teofilinacetatos, salicilatos, fenolftalيناتos, metilen bis-(β -oxi-naftoatos) ó derivados de sustitución de estos ácidos.
10. Como ejemplos de sales de amonio cuaternario farmacéuticamente aceptables pueden citarse derivados de ésteres minerales u orgánicos tales como los cloro-, bromo-, o yodo-metilatos, -etilatos, -alilatos o -bencilatos, los metil- o -etilsulfatos, los metanosulfonatos, los bencenosulfonatos o los
15. derivados de sustitución de estos compuestos.
- Los ejemplos siguientes, dados a título no limitativo, muestran como puede llevarse a la práctica la invención.
- Los Rf de los productos se determinan
20. por cromatografía en capa delgada sobre silicagel.
- Ejemplo 1 -
- (preparación del ciclopeptido A)
- 150 g de peptido antibiótico obtenido como se describe en la patente francesa nº 1.393.208 se
25. disuelven en 1.320 cm³ de metanol clorhídrico 4,5N. Se agita durante dos horas a 20°C. después se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). El residuo se extrae dos veces con 250 cm³ de metanol cada vez. Estos extractos metanólicos dan
30. por evaporación un residuo amorfo que se disuelve en



22 ENE 1969

una mezcla de cloroformo-metanol (95-5 en volúmen). La solución obtenida se vierte por una columna de 11 cm. de diámetro que contiene 2 kilos de sílica-gel. La elución se efectúa por medio del mismo disolvente. Se recogen fracciones de 640 cm³. Las fracciones 10 a 16 permiten obtener 123,3 g. de ciclopeptido A, cromatográficamente puro con un rendimiento del 95,5%.

5.

Rf = 0,55 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volúmen)

10.

$$\frac{\Delta \gamma_D^{22}}{D} = -62^\circ \quad (c = 0,5; \text{metanol})$$

Ejemplo 2 -

Se disuelven 3,35 g. de ciclopeptido A en 70 cm³ de acetato de etilo. Se añaden 1,13 g. de N α -acetil N Σ -benciloxicarbonil L lisina. Se refrigera en un baño de hielo y se añaden 0,8 g. de dicitclohexilcarbodiimida. Se agita durante 2 horas refrigerando exteriormente con un baño de hielo, después durante una noche a 20°C. Se añaden 5 gotas de ácido acético glacial, después se filtra el insoluble formado.

15.

20.

Se lava el precipitado con acetato de etilo, se reúnen las fases orgánicas después se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). Se recoge el residuo en 10 cm³ de acetato de etilo y se lava la solución obtenida sucesivamente con una solución de bicarbonato sódico al 2%, después con ácido clorhídrico N y finalmente con agua destilada. La fase orgánica se seca sobre sulfato sódico anhidro, después se filtra. El filtrado se con-

25.

30.



centra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio).

El residuo bruto (3,14 g) se carga sobre una columna de 3 cm de diámetro que contiene 75 g.

5. de silicagel. Se eluye sucesivamente con benceno, mezclas benceno-acetato de etilo 9-1 (en volúmen) y 5-5 (en volúmen), acetato de etilo y mezclas de acetato de etilo-metanol 95-5 (en volúmen), 90-10 (en volúmen) y 75-25 (en volúmen). Las fracciones eluidas con acetato de etilo y con las mezclas de acetato de etilo-metanol 95-5 y 90-10 se reúnen y se concentran a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). Así se obtienen 2,13 g. de (N γ -acetil N ϵ -benciloxi-carbonil L lisil)-ciclopeptido A con un rendimiento del 48,5%
10. N % = 12,43 (teoría : 12,20)
 $[\alpha]_D^{20} = -67,6^{\circ}$ (c = 0,5; metanol)
 Rf = 0,73 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen).
15. Operando de la misma manera, a partir de materias primas convenientes, se prepara:
 - el (N-bencil N-metil L valil)-ciclopeptido A
 C % = 64,13 (teoría: 64, 30) H % = 8,53 (teoría:8,67)
 Rf = 0,67 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen).
 - 20. - el clorhidrato de (N-bencil N-metil D valil)-ciclopeptido A
 N % = 11,50 (teoría: 11,69) Cl % = 2,95 (teoría: 2,96)
 Rf = 0,87 (silicagel; dicloro-1,2 etanol-metanol, 65-35 en volúmen).
- 25.
- 30.



22 ENE 1960

-14-

- el metanosulfonato de (N-bencil N-metil DL valil)-ciclopeptido A
N % = 10,59 (teoría: 11,13) S % = 2,65 (teoría: 2,55)
Rf = 0,74 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 80-20 en volúmen)
5. - el (N-benciloxycarbonil L valil)-ciclopeptido A
N % = 11,93 (teoría : 11,76)
 $[\alpha]_D^{20} = -73,2^\circ$ (c = 0,5 metanol)
Rf = 0,85 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volúmen)
10. - el (N-benciloxycarbonilglicil)-ciclopeptido A
N % = 11,87 (teoría : 12,18)
Rf = 0,40 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 88-12 en volúmen)
15. - el metanosulfonato de (N-bencilsarcosil)-ciclopeptido A
N % = 10,81 (teoría: 11,52) S % = 2,89 (teoría: 2,64)
Rf = 0,77 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volúmen)
20. - el (N-decanoil L valil)-ciclopeptido A
N % = 11,60 (teoría : 11,56)
Rf = 0,83 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen)
25. - el (undecen-10 oil)-ciclopeptido A
C % = 64,33 (teoría : 64,08) N % = 10,95 (teoría: 11,21)
Rf = 0,58 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen)
30. - el (metil-1 nitro-4 pirrolil-2 carbonil)-ciclopep-

tido A

N % = 13,81 (teoría : 13,87)

Rf = 0,84 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

5. - el clorhidrato de (N-bencil N-metil L metionil)-ciclo-
peptido A
N % = 11,62 (teoría: 11,39) S % = 3,12 (teoría:
2,61)
Rf = 0,65 (silicagel; n-butanol - ácido acético-
agua, 4-1-5 en volúmen)
10. - el (N-benciloxycarbonil L fenilglicil)-ciclopeptido A
N % = 11,11 (teoría : 11,42)
Rf = 0,85 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
15. - el clorhidrato de (N-hexil N-metil L valil)-ciclo-
peptido A
C % (Para la base) = 63,45 (teoría : 63,40)
H % (para la base) = 9,12 (teoría : 9,24)
N % (para la base) = 12,03 (teoría : 12,12)
Rf = 0,53 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
20. - el clorhidrato de (N-bencil N-metil L alanil)-ciclo-
peptido A
N % = 12,20 (teoría : 11,98) Cl % = 3,3 (teoría:
3,03)
Rf = 0,85 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
25. - el (N-bencil N-metil L fenilalanil)-ciclopeptido A
N % = 11,50 (teoría : 11,58)
Rf = 0,77 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol,
- 30.



- 8-2 en volúmen)
- el palmitoil-ciclopeptido A
C % = 64,45 (teoría: 65,24) H% = 9,41 (teoría: 9,51)
N% = 10,30 (teoría: 10,53)
Rf = 0,77 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
 - 5.
 - el undecanoil-ciclopeptido A
C % = 64,78 (teoría: 64,0) H% = 9,28 (teoría: 9,21)
N% = 10,9 (teoría: 11,18)
Rf = 0,52 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol
8-2 en volúmen)
 - 10.
 - el dodecanoil-ciclopeptido A
N% = 11,1 (teoría: 11,05)
Rf = 0,78 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
 - 15.
 - el $\left[\begin{array}{c} \text{L} \\ \text{(+)} \end{array} \right]$ metil-6 octanoil $\left[\begin{array}{c} \text{7} \\ \text{-} \end{array} \right]$ -ciclopeptido A
C% = 63,63 (teoría: 63,41) H% = 8,50 (teoría: 9,03)
N% = 11,12 (teoría: 11,47)
Rf = 0,77 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
 - 20.
 - el benzoil-ciclopeptido A
N% = 11,88 (teoría: 11,86)
Rf = 0,85 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
 - 25.
 - el isonicotinoil-ciclopeptido A
N% = 13,14 (teoría : 13,17)
Rf = 0,83 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
 - 30.
 - el saliciloil-ciclopeptido A



- N % = 11,97 (teoría: 11,68)
Rf = 0,80 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
- el decanoil-ciclopeptido A
5. C % = 63,98 (teoría: 63,69) H % = 9,41 (teoría: 9,15)
Rf = 0,70 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
- el clorhidrato de (N-hexil L valil)-ciclopeptido A
N % (para la base) = 12,25 (teoría: 12,27)
10. Rf = 0,37 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8,2 en volúmen)
- el (N-bencil N-metil L leucil)-ciclopeptido A
N % = 11,99 (teoría : 11,91)
Rf = 0,72 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
15. - el (p-metoxibenciloxicarbonilamino-4 ciclohexilcar-
bonil)-ciclopeptido A
N % = 10,8 (teoría : 11,22)
Rf = 0,76 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
20. - el \angle (metil-10 fenotiazinil-3) acetil- \angle -ciclopeptido A
N % = 11,3 (teoría: 11,56) S % = 2,53 (teoría: 2,64)
Rf = 0,56 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
25. - el \angle (benzoil-3 fenil)-2 propionil- \angle -ciclopeptido A
N % = 10,45 (teoría: 10,55)
Rf = 0,57 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
- el (N,N-diheptilglicil)-ciclopeptido A
30. N % = 11,43 (teoría: 11,56)



Rf = 0,74 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

Ejemplo 3 -

5. Se disuelven 0,21 g. de N-terciobutiloxi-carbonil L valina en 25 cm³ de cloruro de metileno adicionados con 0,14 cm³ de trietilamina. Se refrigera a - 7°C. Se añade 0,1 cm³ de cloroformiato de etilo después se agita durante 35 minutos a - 5°C. A continuación se añaden a la solución 0,96 g. de ciclopeptido
10. A en 10 cm³ de cloruro de metileno adicionados con 0,14 cm³ de trietilamina. Se agita durante 18 horas refrigerando exteriormente con un baño de hielo. Se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). Se obtienen 0,97 g. de (N-terciobutiloxi-carbonil L valil)-ciclopeptido A bruto con un rendimiento del 84%. El producto se disuelve en acetato de etilo. La solución se filtra y después se lava con agua. Se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). Se obtienen así 0,73 g. de (N-terciobutiloxi-carbonil L valil)-ciclopeptido A puro con un rendimiento del 63%.

N % = 11,7 (teoría : 12,1)

Rf = 0,70 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

25. Ejemplo 4 -

30. Se disuelven 2,5 g de L (+) metil-6 octanoil N α -benciloxycarbonil L α , γ -diaminobutiril L treonil N δ -benciloxycarbonil L α , γ -diaminobutirilhidrazida [preparada según el método descrito por K. VOGLER y coll., Helv. 48, 1161 (1965)] en 75 cm³



- de ácido acético glacial y 7,08 cm³ de ácido clorhídrico normal. Se refrigera a + 2°C. A la solución helada se añaden 0,232 g. de nitrito sódico en 2,5 cm³ de agua. Se agita durante 15 minutos a 0°C.
5. Se vierte en una ampolla de decantación refrigerada a 0°C. y después se añaden 200 cm³ de una solución helada de bicarbonato sódico al 5%. Se decanta la fase orgánica que se lava cinco veces sucesivas con 60 cm³ de solución helada de bicarbonato sódico al 5%. Las aguas de lavado se extraen de nuevo con 100 cm³ de acetato de etilo helado. Los extractos orgánicos se lavan a su vez con una solución helada de bicarbonato sódico al 5%. Todas las fases orgánicas se reúnen y después se secan sobre sulfato sódico anhidro a una temperatura comprendida entre 0 y 2°C. Se filtra rápidamente y se añade la solución de L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxicarbonil L α - γ -diamino-butiril L treonil N-benciloxicarbonil L α , γ -diamino-butiril-azida así obtenida a una solución helada de 3,23 g. de ciclopeptido A en 100 cm³ de acetato de etilo adicionado con 0,47 cm³ de trietilamina. Se agita durante 18 horas a una temperatura comprendida entre 0 y 2°C y durante 48 horas a 20°C.
10. La solución obtenida se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). Se recoge el residuo en 100 cm³ de agua. Se tritura hasta pulverización del residuo. Se filtra después se seca bajo presión reducida (0,3 mm de mercurio) en presencia de anhídrido fosfórico. Se recoge el producto obtenido en 20 cm³ de acetona. Se filtra un ligero inso-
15. Se filtra rápidamente y se añade la solución de L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxicarbonil L α - γ -diamino-butiril L treonil N-benciloxicarbonil L α , γ -diamino-butiril-azida así obtenida a una solución helada de 3,23 g. de ciclopeptido A en 100 cm³ de acetato de etilo adicionado con 0,47 cm³ de trietilamina. Se agita durante 18 horas a una temperatura comprendida entre 0 y 2°C y durante 48 horas a 20°C.
20. Se filtra rápidamente y se añade la solución de L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxicarbonil L α - γ -diamino-butiril L treonil N-benciloxicarbonil L α , γ -diamino-butiril-azida así obtenida a una solución helada de 3,23 g. de ciclopeptido A en 100 cm³ de acetato de etilo adicionado con 0,47 cm³ de trietilamina. Se agita durante 18 horas a una temperatura comprendida entre 0 y 2°C y durante 48 horas a 20°C.
25. Se filtra rápidamente y se añade la solución de L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxicarbonil L α - γ -diamino-butiril L treonil N-benciloxicarbonil L α , γ -diamino-butiril-azida así obtenida a una solución helada de 3,23 g. de ciclopeptido A en 100 cm³ de acetato de etilo adicionado con 0,47 cm³ de trietilamina. Se agita durante 18 horas a una temperatura comprendida entre 0 y 2°C y durante 48 horas a 20°C.
30. Se filtra rápidamente y se añade la solución de L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxicarbonil L α - γ -diamino-butiril L treonil N-benciloxicarbonil L α , γ -diamino-butiril-azida así obtenida a una solución helada de 3,23 g. de ciclopeptido A en 100 cm³ de acetato de etilo adicionado con 0,47 cm³ de trietilamina. Se agita durante 18 horas a una temperatura comprendida entre 0 y 2°C y durante 48 horas a 20°C.



luble y se concentra a sequedad bajo presión reducida (20 mm de mercurio).

Se obtienen así 4,44 g. de (L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxycarbonil L α , γ -diaminobutiril L treonil N γ -benciloxycarbonil L α , γ -diaminobutiril)-ciclopeptido A con un rendimiento del 79%.

N % = 11,54 (teoría: 11,75)

Rf = 0,92 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 1-1 en volúmen).

10. Operando de la misma manera, a partir de las materias primas convenientes se prepara:

- el (N α -palmitoil N ξ -benciloxycarbonil L lisil)-ciclopeptido A

N % = 10,51 (teoría: 10,56) C % = 64,65 (teoría:

65,03) H % = 8,89 (teoría : 9,05)

Rf = 0,75 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen)

15.

- el (N α -pelargonil N ξ -benciloxycarbonil L lisil)-ciclopeptido A

N % = 11,08 (teoría; 11,32) C % = 63,18 (teoría:

63,55) H % = 8,41 (teoría: 8,66)

Rf = 0,59 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol 8-2 en volúmen)

20.

- el (N α -palmitoil N γ -benciloxycarbonil L α , γ -diamino-butiril)-ciclopeptido A

N % = 10,59 (teoría: 10,76) C % = 65,02 (teoría

64,63) H % = 8,82 (teoría : 8,95)

Rf = 0,68 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen)

25.

- el (N α -L(+)) metil-6 octanoil N γ -benciloxycarbonil L

30.



α, γ -diaminobutiril)-ciclopeptido A

N % = 11,13 (teoría: 11,56) C % = 63,00 (teoría: 63,08) H % = 8,51 (teoría: 8,55)

Rf = 0,55 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen)

5.

Ejemplo 5 -

Operando como en el ejemplo 4 a partir

de los productos siguientes:

10.

L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxicarbonil L α, γ -diaminobutiril L treonil N γ -benciloxicarbonil

L α, γ -diaminobutirilhidrazida : 2,5 g

Acido acético glacial : : 75 cm³

Acido clorhídrico normal: : 7,08 cm³

Nitrito sódico: 232 mg en solución en 2,5 cm³

15.

de agua

(N-metil L valil)-ciclopeptido A: 3,6 g en solución en 100 cm³ de acetato de etilo adicionados con 0,94 cm³ de trietilamina,

20.

se obtienen 5,23 g. de (L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxi-carbonil L α, γ -diaminobutiril-L treonil N γ -benciloxicarbonil L α, γ -diaminobutiril N-metil L valil)-ciclopeptido A con un rendimiento del 87,5%.

25.

Este producto se purifica por cromatografía sobre silicagel. Se utilizan 50 g de silicagel por cada 5 g. de producto y se eluye el producto con acetato de etilo y con acetato de etilo-metanol, 9-1 (en volúmen). Esta purificación permite obtener 2,81 g. de (L (+) metil-6 octanoil N γ -benciloxicarbonil L α, γ -diaminobutiril-L treonil-N γ -benciloxicarbonil L α, γ -

30.



diaminobutiril N-metil L valil)-ciclopeptido A cromatográficamente puro con un rendimiento del 47%

N % = 11,79 (teoría = 11,79)

Rf = 0,31 (silicagel: dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen).

5.

De la misma manera se preparan los productos siguientes:

- el (N-estearoil L valil)-ciclopeptido A.

N % = 10,46 (teoría: 10,58)

10.

Rf = 0,45 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen)

- el (N-estearoil N-metil L valil)-ciclopeptido A

N % = 10,02 (teoría; 10,4)

Rf = 0,78 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volúmen)

15.

Ejemplo 6 -

Se disuelven 1,43 g. de ácido heptanoico en 5 cm³ de dimetilformamida después se añaden 0,173 g de N-hidroxisuccinimida. Se refrigera a - 10°C. Se añaden 0,31 g. de dicitclohexilcarbodiimida. Se agita durante una hora a - 10°C., después durante dos horas a 0°C y durante 18 horas a 20°C.

20.

Se elimina la dicitclohexilurea formada por filtración después se añade al filtrado la solución de 1,44 g. de ciclopeptido A en 75 cm³ de dimetilformamida adicionada con 0,21 cm³ de trietilamina. Se agita entonces durante 18 horas a 20°C.

25.

Se concentra el medio reaccional a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). Se recoge el residuo formado con 50 cm³ de acetato de etilo

30.



- y se lava sucesivamente por medio de una solución acuosa al 5% de bicarbonato sódico, de ácido clorhídrico normal y de agua. Se seca la fase orgánica sobre sulfato sódico anhidro. Se filtra y después se concentra el filtrado a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio).
5. Se cromatografía el residuo sobre 20 veces su peso de silicagel y se eluye con mezclas cloroformo-metanol cuyo contenido en metanol se aumenta progresivamente. El heptanoil-ciclopeptido A se eluye con una mezcla cloroformo-metanol 98-2 (en volumen). Las fracciones correspondientes se concentran a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio).
10. De este modo se obtienen 0,92 g. de heptanoil-ciclopeptido A con un rendimiento de 37%.
15. N% = 11,2 (teoría: 11,77) C% = 62,6 (teoría: 62,83)
H% = 8,9 (teoría: 8,94)
Rf = 0,82 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volumen).
20. Operando de la misma manera, a partir de las materias primas convenientes se preparan los productos siguientes:
- el estearoil-ciclopeptido A
C% = 65,80 (teoría: 65,70) H% = 9,60 (teoría: 9,62)
Rf = 0,82 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volumen)
25. - el n-butiril-ciclopeptido A
C% = 60,9 (teoría: 61,9) H% = 8,7 (teoría: 8,72)
Rf = 0,55 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volumen)
- 30.

22 DE 1969



- el sorboil-ciclopeptido A
N % = 11,99 (teoría : 11,97)
Rf = 0,75 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
5. - el clorhidrato de (pirrolidino-11 undecanoil)-ciclo-
peptido A
N % = 10,9 (teoría : 11,35) Cl% = 2,65 (teoría: 2,87)
Rf = 0,60 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
10. - el clorhidrato de (pirrolidino-2 hexanoil)-ciclopep-
tido A
N % = 11,81 (teoría : 12,05)
Rf = 0,70 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)

15. Ejemplo 7 -

- Se disuelven 2,875 g. de ciclopeptido A en 10,5 cm³ de dimetilformamida, después se añaden 1,28 g. de N-terciobutiloxicarbonil L metionato de tricloro-2,4,5 fenilo. Se refrigera la solución a 0°C.
20. Se añaden a continuación lentamente 0,42 cm³ de trietilamina después se agita durante 18 horas a 0°C. Esta solución se vierte en la mezcla de 45 g. de hielo y 15 cm³ de ciclohexano adicionados con 0,02 cm³ de ácido acético. Se obtiene un aceite blanco que se decanta y que se recoge con 6 cm³ de acetato de etilo. Por adición de 100 cm³ de éter de petróleo, se obtiene un sólido blanco que se filtra y se seca. Se obtienen 2,85 g de (N-terciobutiloxicarbonil L metionil)-ciclopeptido A.

30. 1,2 g. de este producto se recogen en



- 2,73 cm³ de dioxano clorhídrico (1,8 N) y se mantienen durante 5 horas a 20°C. Se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). Se recoge el producto obtenido en acetato de etilo y después se cromatografía sobre 15 g. de silicagel contenidos en una columna de 1,2 cm de diámetro. Las fracciones eluidas por la mezcla acetato de etilo-metanol (90-10 en volúmen) se reúnen. Se evapora el disolvente bajo presión reducida (25 mm de mercurio) y se recoge el residuo en 50 cm³ de agua y se liofiliza la solución obtenida.

De este modo se obtienen 0,52 g. de clorhidrato de (L metionil)-ciclopeptido A

$$S \% = 2,92 \text{ (teoría : 2,84)}$$

15. $R_f = 0,47$ [silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol (8-2 en volúmen)]

Operando de la misma manera, a partir de materias primas convenientes, se obtienen:

20. - el clorhidrato de (pirrolidino-6 hexanoil)-ciclopeptido A
- $$N \% = 12,05 \text{ (teoría : 12,05)}$$
- $$R_f = 0,52 \text{ (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volúmen)}$$

Ejemplo 8 -

25. Se disuelven 2 g de ciclopeptido A en 40 cm³ de cloruro de metileno después se añaden 0,28 cm³ de trietilamina. Se refrigera a una temperatura comprendida entre -5 y -10°C después se añaden durante 10 minutos, simultáneamente, las dos soluciones siguientes:
- 30.



- a) -0,56 cm³ de trietilamina disueltos en 15 cm³ de cloruro de metileno
- b) -0,684 g. de clorhidrato de cloroformiato de dietil-amino-11 undecilo en 15 cm³ de cloruro de metileno.

5.

Se agita durante 2 horas a 0°C y después durante 18 horas a 20°C. A continuación se lava el medio reaccional por medio de una solución al 5% de bicarbonato sódico y después con una solución saturada de cloruro sódico. Se seca sobre sulfato sódico,

10.

se filtra y se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio). El residuo obtenido se cromatografía sobre 25 g de silicagel contenidos en una columna de 1,2 cm de diámetro. Las fracciones

15.

eluidas por las mezclas acetato de etilo-metanol 98-2 y 95-5 (en volumen) se reúnen y se concentran a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio).

20.

Se recoge el residuo con 40 cm³ de agua, después se añade gota a gota ácido clorhídrico normal hasta pH 3. Se filtra un ligero insoluble, y se liofiliza el filtrado. De este modo se obtiene 1,24 g de clorhidrato de (dietilamino-11 undeciloxycarbonil)-ciclo-peptido A con un rendimiento del 50%.

N % = 10,87 (teoría : 11,07)

25.

Rf = 0,64 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 65-35 en volumen)

De la misma manera, se prepara:

C % = 63,50 (teoría: 63,08) H % = 9,10 (teoría: 9,08)

N % = 11,95 (teoría: 11,03)

30.

Rf = 0,85 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,



8-2 en volúmen).

Ejemplo 9 -

5. Se mezclan 2,98 g de ciclopeptido A
0,569 g. de cloruro de o.nitrofenilsulfenilo y 0,42
cm³ de trietilamina en 40 cm³ de acetato de etilo
a 2°C. Se agita durante 18 horas refrigerando exte-
riormente por un baño de hielo después se concentra
a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio).
Se obtienen 3,45 g. de producto bruto que se cromato-
grafía sobre 30 g de silicagel contenido en una co-
luna de 2 cm. de diámetro. Las fracciones eluidas con
acetato de etilo se concentran a sequedad bajo presión
reducida (25 mm de mercurio). De este modo se obtiene
un gramo de (o.nitrofenilsulfenil)-ciclopeptido A.
10. N % = 12,1 (teoría : 12,6)
S % = 2,85 (teoría : 2,88)
Rf = 0,79 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
15. de la misma manera, a partir de materias primas conve-
nientes, se prepara:
20. - el (dimetilamino-1 naftalenosulfenil-5)-ciclopepti-
do A
N % = 11,66 (teoría: 11,75) S % = 2,69 (teoría
2,69).
25. Rf = 0,70 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
- el p. toluenosulfenil-ciclopeptido A
N % = 11,10 (teoría: 11,83) S % = 2,56 (teoría
2,88)



Rf = 0,74 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

- el p.acetilaminobencenosulfonil-ciclopeptido A
N % = 11,71 (teoría : 12,12) S % = 2,93 (teoría :
2,77)

5.

Rf = 0,82 (silicagel ; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

Ejemplo 10 -

10.

Se disuelven 863 mg de (N α -acetil N ξ -ben-
ciloxicarbonil L lisil)-ciclopeptido A en 25 cm³ de
metanol. Se añaden 863 mg de negro de paladio (conte-
niendo un 3% de metal activo). Se hidrogena bajo agi-
tación violenta durante 2 horas a 20°C y bajo una pre-
sión de 760 mm de mercurio.

15.

La solución obtenida se filtra y el pre-
cipitado se lava con 10 cm³ de ácido clorhídrico 0,5N.
El filtrado y los lavados se reúnen. Se concentra a
sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio) en
un evaporador rotativo. El residuo se disuelve en

20.

5 cm³ de acetona y se precipita el producto por adi-
ción de 50 cm³ de éter helado. Después de una refri-
geración de 3 horas a +4°C se filtra el precipitado
que se lava con éter y después se seca durante 18 ho-
ras bajo presión reducida (0,3 mm de mercurio) en
presencia de anhídrido fosfórico.

25.

De este modo se obtienen 0,46 g. de
(N α -acetil L lisil)-ciclopeptido A con un rendimien-
to del 57,6%.

N % = 13,0 (teoría : 13,23)

30.

$[\alpha]_D^{20} = -77,2^{\circ}$ (c = 0,5, metanol).

22 ENE 1969



Rf = 0,56 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
1-1 en volúmen).

De la misma manera, a partir de materias
primas convenientes, se preparan los productos si-
guientes:

5. - el metanosulfonato de L valil-ciclopeptido A.
N % = 11,83 (teoría : 12,14)
Rf = 0,55 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)
10. - el clorhidrato de (L (+) metil-6 octanoil L α , γ -dia-
minobutiril L treonil L α , γ -diaminobutiril)-ciclopep-
tido A.
Cl % = 5,08 (teoría : 4,81)
Rf = 0,14 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
1-1 en volúmen)
15. - el clorhidrato de (L (+) metil-6 octanoil L α , γ -di-
aminobutiril L treonil L α , γ -diaminobutiril N-metil
L valil)-ciclopeptido A.
N % = 13,37 (teoría: 13,25) Cl % = 4,47 (teoría:
4,47)
20. Rf = 0,05 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol;
1-1 en volúmen)
- el (N α -palmitoil L lisil)-ciclopeptido A
N % = 10,9 (teoría : 11,3)
25. Rf = 0,14 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)
- el clorhidrato de (N α -pelargonil L lisil)-ciclo-
peptido A.
N % = 12,20 (teoría: 12,19) Cl % = 2,95 (teoría:
2,81)
- 30.



-30-

Rf = 0,08 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

- el clorhidrato de (N -L (+) metil-6 octanoil L
α,γ-diaminobutiril)-ciclopeptido -

5. N % = 12,27 (teoría: 12,48)

Rf = 0,40 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

- el (N-metil p-dimetilamino-fenil DL alanil)-ciclopep-
tido A

10. N % = 13,05 (teoría : 13,25)

Rf = 0,5 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

Ejemplo 11 -

15. Se disuelven 0,5 g. de (p-metoxibenciloxi-
carbonil-amino-4 ciclohexilcarbonil)-ciclopeptido A
en 10 cm³ de dioxano; se añaden 0,25 cm³ de dioxano
clorhídrico anhidro 4N y se agita la solución obteni-
da durante 18 horas. Se elimina el disolvente bajo
presión reducida (30 mm de mercurio) a 35°C y se re-
coge el residuo con 20 cm³ de acetato de etilo; se
20. lava la solución obtenida con 20 cm³ de agua y se de-
canta la fase orgánica que se evapora a sequedad ba-
jo presión reducida (30 mm de mercurio) a 35°C.

25. El residuo se recoge en 10 cm³ de diox-
ano y se trata durante 4 horas con 0,84 cm³ de diox-
ano clorhídrico anhidro 4N. Se elimina el disolvente
bajo presión reducida (30 mm de mercurio) a 35°C y se
recoge el residuo en 20 cm³ de acetato de etilo. Se
lava la solución con 20 cm³ de agua. Se decanta la
30. fase acuosa que se une a la fase acuosa obtenida en



- el transcurso del primer tratamiento. Se concentra a sequedad bajo presión reducida (0,3 mm de mercurio) a 35°C. Se recoge el residuo en 10 cm³ de agua, se filtra un ligero insoluble y se evapora a sequedad bajo presión reducida como anteriormente. El residuo se recoge en 10 cm³ de agua y se liofiliza .
- 5.

De este modo se obtienen 0,355 g. de (amino-4 ciclohexilcarbonyl)-cicloheptido A con un rendimiento del 78%.

10. N % = 12,75 (teoría : 12,51)
Rf = 0,43 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
8-2 en volúmen)

Ejemplo 12 -

- Se disuelven 10 g. de cicloheptido A en 200 cm³ de cloruro de metileno y se añaden 1,4 cm³ de trietilamina. Se refrigera la solución así obtenida a - 5°C. y se añade a continuación en el transcurso de 10 minutos la solución helada de 1,81 g de cloruro de tricloroacetilo en 20 cm³ de cloruro de metileno. La mezcla reaccional se agita durante 2 horas a - 5°C y después durante 18 horas a temperatura ambiente. El disolvente se elimina por destilación bajo presión reducida (30 mm de mercurio) a 50°C y se recoge el residuo en 100 cm³ de acetato de etilo.
- 15.
- 20.
25. Se elimina un insoluble por filtración y el filtrado se lava sucesivamente con dos veces 75 cm³ de una solución helada al 5% de bicarbonato sódico, dos veces con 75 cm³ de ácido clorhídrico normal y después con 30 cm³ de una solución saturada de cloruro sódico. La fase orgánica se seca sobre sulfa-
- 30.



to sódico, se filtra y se concentra el filtrado a sequedad bajo presión reducida (30 mm de mercurio) a 50°C. De este modo se obtienen 7,23 g. de producto bruto que se recoge en 20 cm³ de acetato de etilo y que se carga sobre una columna de 2 cm. de diámetro que contiene 125 g. de silicagel. La elución se efectúa por medio de acetato de etilo. El producto se recupera de las fracciones comprendidas entre 150 y 450 cm³ de eluato tras la eliminación del disolvente bajo presión reducida (30 mm de mercurio) a 50°C.

Después de secar a 30°C bajo presión reducida (0,1 mm de mercurio), se obtienen 6 g de tricloraacetil-ciclopeptido A con un rendimiento del 53%.

N% = 10,9 (teoría : 11,13)

Rf = 0,8 (silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol,
65-35 en volúmen)



EJEMPLO A

- Se disuelven 65 g de N₁-lauril D valins en 800 cm³ de cloruro de metileno y se añaden 51 cm³ de tricetilamina. Tras haber refrigerado el medio reaccional
5. en un baño de hielo, se añaden 182 g de ciclipeptido A después 42,5 g de dicitclohexilcarbodiimida. Se agita 18 horas a + 2^oC después durante 48 horas a una temperatura próxima a 20^oC. Después se añaden 5 cm³ de ácido acético glacial después se filtra el precipitado
10. formado; se concentra a sequedad bajo presión reducida (25 mm de mercurio) y se recoge el residuo por 500 cm³ de acetato de etilo; la suspensión obtenida se mantiene en un baño de hielo durante 30 minutos después se filtra lo insoluble. El filtrado se concentra a sequedad
15. bajo presión reducida (25 mm de mercurio).

- El producto bruto así obtenido se purifica por cromatografía; a este efecto, se vierte la solución del producto bruto en 500 cm³ de acetato de etilo sobre una
20. columna de 10 cm de diámetro que contiene 2 kg de sílice. La solución se efectúa por mezclas de acetato de etilo-metanol con contenido creciente en metanol. Se recogen fracciones de 300 cm³. Las fracciones eluidas por la mezcla acetato de etilo-metanol (98-2, en volumen) se reunen, después se concentran a sequedad bajo presión
25. reducida (25 mm de mercurio).

- El producto obtenido se recoge por 900 cm³ de agua: se acidifica a pH 1 por adición de ácido clorhídrico normal después se agita durante dos horas hasta disolución completa. Se concentra a sequedad bajo presión reducida (0,3 mm de mercurio) para eliminar el
30. exceso de ácido clorhídrico, después se recoge el re-



siduo por 500 cm³ de agua y se concentra a sequedad bajo presión reducida (0,3 mm de mercurio). Se recoge el residuo por 900 cm³ de agua y se liofiliza.

5. De este modo se obtienen 74 g de clorhidrato de N-lauril N-metil D valilciclopeptido A.

C % = 62,7	(teoria: 63,06)
H % = 9,25	(teoria: 9,25)
Cl % = 2,6	(teoria: 2,77)
Rf = 0,51	(silicagel; dicloro-1,2 etano- -metanol, 8-2 en volumen).

10.

EJEMPLO B

Se opera como en el ejemplo A, pero utilizando 1,75 g de N-undecil N-metil D valina en 110 cm³ de cloruro de metileno, 1,52 cm³ de trietilamina, 5,4 g de ciclopeptido A y 1,12 g de dicitclohexilcarbodiimida. Tras cromatografia sobre una columna que contiene 120 g de silice, se obtienen 1,83 g de N-undecil N-metil D valilciclopeptido A.

15.

C % = 64,0	(teoria: 64,68)
H % = 9,09	(teoria: 9,54)
N % = 11,1	(teoria: 11,43)
Rf = 0,63	(silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volumen)

20.

EJEMPLO C

25. Se opera como en el ejemplo A pero utilizando 4,8 g de N-miristil N-metil D valina en 27 cm³ de cloruro de metileno, 2,4 cm³ de trietilamina, 10,3 g de ciclopeptido A y 2,09 g de dicitclohexilcarbodiimida. Tras purificación del producto bruto por cromatografia, se obtienen 30. 2 g de clorhidrato de N-miristil N-metil D valil ciclo-



peptido A.

N % = 10,5	(teoria: 10,73)
Cl% = 2,56	(teoria: 2,71)
Rf = 0,68	(silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol 8_2 en volumen)

5.

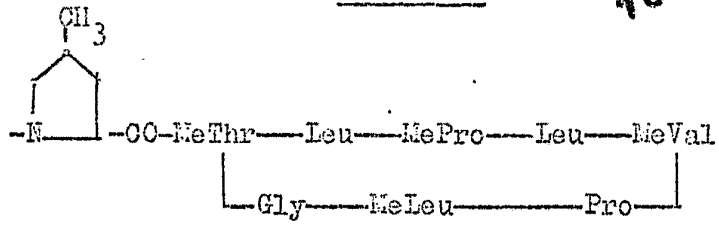
EJEMPLO D

Se opera como en el ejemplo A pero utilizando 1,4 g de N-tridecil N-metil D valina en 80 cm³ de acetato de etilo, 1,12 cm³ de trietilemina, 4 g de ciclopeptido A y 0,9 g de dicitclohexilcarbodiimide. Tras purificación del producto bruto por cromatografía sobre una columna que contiene 50 g de sílice y después, transformación en clorhidrato, se obtienen 0,48 g de clorhidrato de N-tridecil N-metil D valil ciclopeptido A.

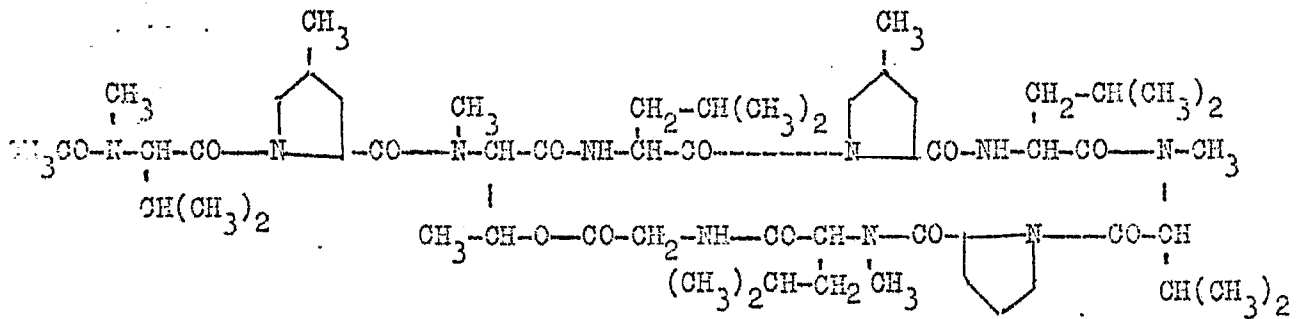
10.

15.

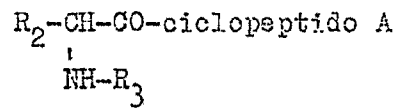
N % = 10,32	(teoria: 10,85)
Cl% = 2,77	(teoria: 2,82)
Rf = 0,75	(silicagel; dicloro-1,2 etano-metanol, 8-2 en volumen)



(II)



(III)



(XI)



18 OCT. 1969

- y R' representa un radical acilo elegido entre los radicales alcanilo, alquenoilo, alcadienoilo, alquilo-oxicarbonilo, aralcanilo, aroilo, arilsulfenilo, arilsulfenilo, arilsulfonilo, cicloalquilcarbonilo, heterociclilcarbonilo, heterociclilalcanilo ó recto de radical peptídico lineal o cíclico enlazado por un grupo carbonilo al átomo de nitrógeno de la L trans-metil-4 prolina de la cadena lateral del ciclopeptido A,
- 5.
10. - Las porciones alquilos o alquenos de los radicales alcanilos, alquenoilos, alquilo-oxicarbonilos, aralcanilos, ó heterociclilalcanilos son de cadena recta o ramificada que contienen de 1 a 50 átomos de carbono eventualmente sustituidos por uno o varios átomos de halógeno o radicales amino o alquiltio que contienen de 1 a 5 átomos de carbono.
15. - Las porciones alquilos de los radicales alquilo-oxicarbonilos contienen de 1 a 15 átomos de carbono y pueden estar sustituidas por un radical dialquilamino, cuyas porciones alquilos contienen cada una de 1 a 5 átomos de carbono,
20. - Las porciones aromáticas de los radicales aralcanilos, aroilos, arilsulfenilos, arilsulfenilos o arilsulfonilos representan un anillo bencénico o naftalénico eventualmente sustituido por uno o varios radicales alquilos, hidroxilos, benzoilos, amino, dialquilamino, alcanoilamino o nitro, conteniendo los radicales alquilos y las porciones alquilo de los diferentes radicales de 1 a 12 átomos de carbono.
- 25.
30. - Las porciones heterocíclicas de los radicales heta-



18 OCT 1963

- rociclicarbonilos, o heterociclicarbonilos representan heterociclos mono- o poli-nucleares que contienen uno o varios heteroátomos elegidos del grupo de los átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre y eventualmente sustituidos por uno o varios radicales alquilos o nitro.
5. - Las porciones cicloalcoilos de los radicales cicloalquilcarbonilos representan radicales cicloalquilos de 5 ó 6 miembros, eventualmente sustituidos por uno o varios radicales amino,
10. - Los restos de radicales peptídicos, lineales o cíclicos contienen de 2 a 15 aminoácidos.
- Los radicales amino que sustituyen las porciones alquilos alquénilos, o cicloalquilos de los radicales definidos anteriormente y las funciones aminas de los radicales peptídicos lineales o cíclicos pueden estar eventualmente sustituidos por uno o varios radicales alquilos, alcoilos, aralcoilos, alquiloxicarbonilos, aralquiloxicarbonilos ó alquiloxiaralquiloxicarbonilos, los radicales alquilos y las porciones alquilos de los restantes radicales contienen de 1 a 30 átomos de carbono, en forma de bases, de sales de adición con los ácidos y de sales de amonio cuaternario, caracterizado porque se condensa un ácido R'OH o un derivado activado de este ácido sobre el ciclopeptido A, en el que R' se reemplaza por un átomo de hidrógeno.
15. 20. 25. 30.

2ª - Procedimiento según la reivindicación 1ª, para la preparación de los productos en los que R' representa un radical diferente de un radical



3 OCT. 1969

alquiloxicarbonilo, arilsulfoniló, arilsulfínilo o arilsulfónilo, caracterizado porque se condensa un ácido, una azida, un éster activado, un anhídrido de ácido o un cloruro de ácido sobre el ciclopeptido A.

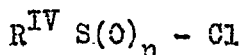
5.

3ª - Procedimiento según la reivindicación 1ª, para la preparación de los productos de los que R' representa un radical alquiloxicarbonilo, eventualmente sustituido de la forma anteriormente indicada, caracterizado porque se hace reaccionar un cloroformiato de alquilo eventualmente sustituido como se indica anteriormente sobre el ciclopeptido A.

10.

4ª - Procedimiento según la reivindicación 1ª, para la preparación de los productos en los que R' representa un radical arilsulfenilo, arilsulfínilo o arilsulfonilo definido como anteriormente, caracterizado porque se hace reaccionar un producto de fórmula general:

15.



en la que R^{IV} es un anillo bencénico o naftalénico eventualmente sustituido, definido como anteriormente, y n representa 0, 1 ó 2, sobre el ciclopeptido A.

20.

5ª - Procedimiento para la preparación de nuevos ciclopeptidos, tal y como queda sustancialmente descrito en la presente Memoria.

25.

Esta Memoria consta de cuarenta hojas escritas a máquina por una sola cara.

Madrid,

RICARDO FOULENC S.A.,