



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 527**

51 Int. Cl.:

**C07K 1/02** (2006.01)

**C07K 1/00** (2006.01)

**C07K 1/06** (2006.01)

**C07K 5/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07730209 .9**

96 Fecha de presentación : **18.06.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2038295**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.03.2009**

54 Título: **Dipéptidos de la pseudoprolina.**

30 Prioridad: **28.06.2006 EP 06116238**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**24.05.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**24.05.2011**

73 Titular/es: **F. Hoffmann-La Roche AG.**  
**Grenzacherstrasse 124**  
**4070 Basel, CH**

72 Inventor/es: **Ammann, Thomas;**  
**Goetzoe, Stephan;**  
**Thern, Bernd;**  
**Welz, Sandra y**  
**Wolter, Klaus-Juergen**

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

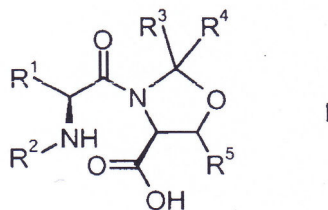
ES 2 359 527 T3

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

Dipeptidos de la pseudoprolina

5 La invención se refiere a un nuevo procedimiento para la fabricación de un compuesto de fórmula

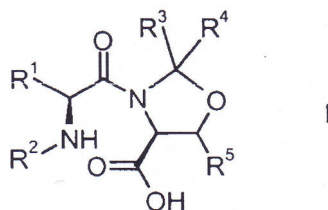


10 Los dipéptidos de la pseudo prolina de fórmula I pueden emplearse como grupos reversibles de protección para Ser, Thr y Cys, confirmando que son herramientas versátiles para solventar algunos problemas intrínsecos en el campo de la química de los péptidos [JACS 1996, 118, 9218-9227]. La presencia de la  $\Psi$ Pro dentro de una secuencia de un péptido da como resultado la disolución de las estructuras de hojas  $\beta$  consideradas como una fuente de agregación intermolecular. La mayor solvatación resultante y el acoplamiento de los cinéticos en el conjunto de péptidos como por ejemplo la síntesis de péptidos en fase sólida Fmoc, facilitan el alargamiento de la cadena especialmente en los péptidos que contienen "secuencias difíciles".

15 El objeto de la presente invención es el de proporcionar una síntesis breve y técnicamente viable de los dipéptidos de la pseudo prolina de forma I, la cual permite la obtención del producto con un alto rendimiento y sin ningún paso de purificación cromatográfica.

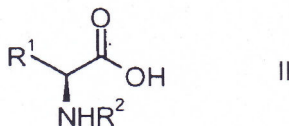
20 El objetivo se ha conseguido con el procedimiento como se indica más adelante. El procedimiento para la fabricación de un compuesto de fórmula

25

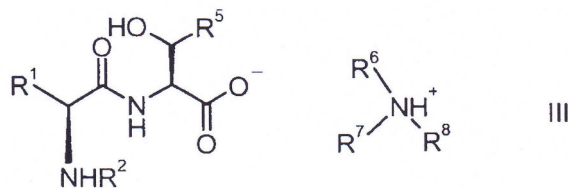


30 en donde  $R^1$  es una cadena lateral de un alpha amino-ácido,  $R^2$  es un grupo amino protector, y  $R^3$  y  $R^4$  están seleccionados independientemente entre sí, entre el grupo formado por hidrógeno, alquilo de 1 a 9 átomos de carbono,  $R^5$  es hidrógeno o metilo, comprende

35 a) la conversión de un derivado de aminoácido de fórmula



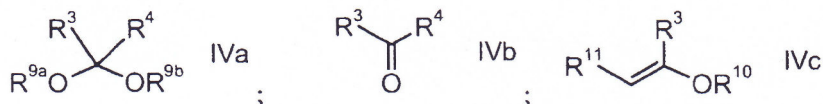
40 en donde  $R^1$  y  $R^2$  son como se ha indicado más arriba, con serina o treonina, y cristalizando el dipéptido resultante como sal de amonio de fórmula



en donde  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^5$  son como se ha indicado más arriba, y  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$  están independientemente entre sí, seleccionados entre el grupo formado por hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono, con la condición de que no todos los  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$  sean hidrógeno, en un paso subsiguiente,

b) liberando el ácido libre de la sal de amonio de fórmula III en presencia de un ácido y eliminando la amina por extracción, y

c) efectuando el cierre del anillo con un compuesto seleccionado entre



en donde  $R^1$  y  $R^4$  se seleccionan, independientemente entre sí, entre el grupo formado por hidrógeno o alquilo de 1 al 4 átomos de carbono, con la condición de que ambos  $R^3$  y  $R^4$  no sean hidrógeno,  $R^{9a}$  y  $R^{9b}$  son, independientemente entre sí, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono,  $R^{10}$  tiene el significado de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcanilo de 1 a 4 átomos de carbono, o arilo, y  $R^{11}$  es hidrógeno o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, en presencia de un catalizador ácido.

Se comprende además que la serina o treonina pueden emplearse, bien en su configuración L ó bien en su configuración D, como racemato, o en mezclas varias de sus isómeros. De preferencia se emplea la configuración L.

El término "alquilo de 1 a 4 átomos de carbono", se refiere a un radical hidrocarburo alifático saturado monovalente de cadena ramificada o lineal, de uno a cuatro átomos de carbono. Ejemplos de este término son los radicales metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, s-butilo, y t-butilo.

El término "cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono" se refiere a un grupo cicloalquilo que contiene de 3 a 7 átomos de carbono, como por ejemplo el ciclopropilo, el ciclobutilo, el ciclopentilo, el ciclohexilo o el cicloheptilo.

El término "arilo" se refiere a un grupo fenilo o naftilo, de preferencia el grupo fenilo, el cual puede opcionalmente ser mono o múltiple substituido con halógeno, hidroxilo, CN,  $CF_3$ ,  $NO_2$ ,  $NH_2$ , N(H,alquilo), N(alquilo) $_2$ , carboxilo, aminocarbonilo, alquilo, alcoxilo, arilo y/o ariloxilo. De preferencia, el grupo arilo es fenilo.

El término "alcanoilo" se refiere a un grupo alquilo carbonilo de 1 a 4 átomos de carbono, como por ejemplo el acetilo, el n-propanoilo, el isopropanoilo, el n-butanoilo, el s-butanoilo y el t-butanoilo, de preferencia el acetilo.

El término "cadena lateral de un aminoácido" empleado para el  $R^1$ , se refiere particularmente a cadenas laterales de  $\alpha$  aminoácidos, seleccionados del grupo formado por valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, asparagina, glutamina, ácido glutámico, histidina, lisina, arginina, ácido aspártico, alanina, serina, treonina, tirosina, triptófano, cisteína, glicina y ácido aminoisobutírico.

Se comprende que en las cadenas laterales de los amino-ácidos que llevan un grupo hidroxilo, este grupo hidroxilo esté opcionalmente protegido por un grupo hidroxiprotector como se define más adelante. En las cadenas laterales que llevan grupos amino adicionales, el grupo amino está opcionalmente protegido por un grupo aminoprotector como se define más adelante.

$R^1$  está de preferencia como cadena lateral de la valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, asparagina, glutamina,

ácido glutámico, lisina, ácido aspártico, alanina, serina, treonina, tirosina y triptófano. Los más preferidos son la serina y la treonina.

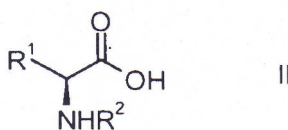
5 El término "grupo amino protector" se refiere a cualquier sustituyente convencionalmente empleado para inhibir la reactividad del grupo amino. Grupos amino protectores adecuados están descritos por Green T., en "Protective Groups in Organic Synthesis" ("Grupos protectores en síntesis orgánica"), capítulo 7, John Wiley e hijos, Inc., 1991, 309-385. Grupos amino protectores adecuados son por ejemplo, el Fmoc, Cbz, Moz, Boc, Troc, Teoc ó Voc. El grupo amino protector preferido es el Fmoc.

10 El término "grupo hidroxilo protector" se refiere a cualquier sustituyente convencionalmente empleado para inhibir la reactividad del grupo hidroxilo. Grupos protectores de hidroxilo adecuados están descritos por Green T., "Protective Groups in Organic Synthesis" ("Grupos protectores en síntesis orgánica"), capítulo 1, John Wiley e hijos, Inc., 1991, 10-142. Grupos hidroxilo protectores adecuados son por ejemplo el t-butilo, el bencilo, el TBDMS ó el TBDPS. El grupo hidroxilo protector preferido es el t-butilo.

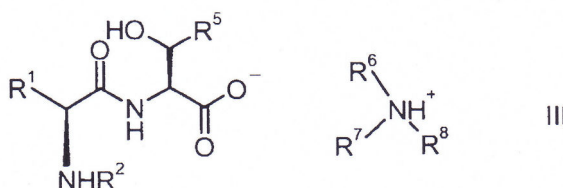
15 El significado de las abreviaciones empleadas en la descripción y en las reivindicaciones es como se indica en la tabla siguiente:

|       |  |
|-------|--|
| Fmoc  | 9- fluorenilmetoxicarbonilo                                  |
| Boc   | t- butoxicarbonilo   |
| Cbz   | Carbobenciloxilo   |
| Z     | Benciloxicarbonilo   |
| tBU   | t- butilo  |
| Moz   | p- metoxibenciloxicarbonilo                                  |
| Troc  | 2,2,2- tricloroetoxicarbonilo                                |
| Teoc  | 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo                              |
| Voc   | Viniloxícarbonilo  |
| TBDMS | t-butildimetilsililéter                                      |
| TBDPS | t- butildifenilsililéter                                     |
| HBTU  | O-benzotriazol N,N,N',N'-tetrametil-uronio-hexafluor-fosfato |
| HOBt  | 1-hidroxibenzotriazol  |
| HOSu  | N-hidroxisuccinimida   |
| EDC   | (3-dimetilamino-propil)-etil-carbodiimida (hidrocloruro)     |
| DIC   | N,N'-diisopropilcarbodiimida                                 |
| DCC   | N,N'-diciclohexilcarbodiimida                                |

20 Paso a)  
En el primer paso a), un derivado de aminoácido de fórmula



25 en donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se ha indicado más arriba, se hace reaccionar con serina o treonina, y el dipéptido resultante se cristaliza como sal de amonio, de fórmula



30

en donde  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^5$ ,  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$  son como se ha indicado más arriba.

Los derivados de aminoácido de fórmula II son compuestos que se encuentran por regla general comercialmente disponibles. Derivados de aminoácido adecuados de fórmula II de acuerdo con las preferencias dadas para  $R^1$  y  $R^2$  son el Fmoc-L-Ser(tBu)-OH, ó el Fmoc-L-Thr(tBu)-OH.

Antes de la copulación con la serina o treonina, el derivado de aminoácido de fórmula II se activa convenientemente con un reactivo activador.

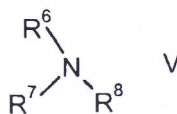
Reactivos activadores adecuados pueden seleccionarse del grupo formado por el DIC/HOSu, DIC/pentafluorfenol, DIC/HOBt, DCC/HOSu, DCC/pentafluorfenol, DCC/HOBt, EDC(xHCl)/HOSu ó HBTU/HOBt. El agente de copulación preferido es el DIC/HOSu. El DIC se emplea habitualmente en una cantidad de 1,0 a 1,4 equivalentes y el HOSu se emplea habitualmente en una cantidad de 1,0 a 1,8 equivalentes referidos a un equivalente del derivado de aminoácido de fórmula I.

Por regla general, la reacción de activación se realiza en presencia de un disolvente orgánico adecuado, como por ejemplo el acetato de etilo, la N,N-dimetilformamida, la acetona o el tetrahidrofurano, de preferencia el acetato de etilo a una temperatura de  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

La copulación con serina o treonina, de preferencia con L-serina ó L-treonina, puede realizarse a una temperatura de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}$  a  $30\text{ }^{\circ}\text{C}$  en presencia de un disolvente orgánico, como por ejemplo el acetato de etilo, la acetona o el tetrahidrofurano o mezclas de los mismos con agua. El disolvente preferido es una mezcla de acetona y agua.

La relación entre la serina o la treonina y el derivado de aminoácido de fórmula II, se selecciona habitualmente en el margen de 1,5 a 3,0 a 1, de preferencia 2,0 a 1. El pH de la mezcla de reacción se ajusta convenientemente a un valor de 7,5 a 9,0.

La formación de la sal de amonio de fórmula III tiene lugar mediante la adición al dipéptido previamente formado, de una amida de fórmula



en donde  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$ , independientemente entre sí, se seleccionan entre el grupo formado por halógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono, con la condición de que no todos los  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$  sean hidrógeno.

Aminas adecuadas de fórmula V son aquellas en las que  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$ , independientemente entre sí, se seleccionan entre el grupo formado por hidrógeno, etilo o ciclohexilo, con la condición de que no todos los  $R^6$ ,  $R^7$  y  $R^8$  sean hidrógeno. La ciclohexilamina, la dicitclohexilamina y la trietilamina son las aminas preferidas; la dicitclohexilamina es la amina de fórmula V empleada con mayor preferencia. La cristalización se efectúa habitualmente en disolventes orgánicos adecuados como por ejemplo en alcoholes inferiores como el metanol, etanol, n-propanol o i-propanol o en acetato de etilo o tetrahidrofurano. El disolvente más preferido es el etanol.

Las sales de amonio preferidas son las sales de dicitclohexilamonio de fórmula III, en donde  $R^1$  y  $R^2$  son como se ha descrito más arriba,  $R^5$  es hidrógeno o metilo,  $R^6$  es hidrógeno y  $R^7$  y  $R^8$  son ciclohexilo. Más preferidos son los compuestos de fórmula III en donde:

- $R^1$  significa la cadena lateral de la L-serina con una protección O-tBu,  $R^2$  es Fmoc,  $R^5$  es H,  $R^6$  es hidrógeno, y  $R^7$  y  $R^8$  son ciclohexilo.
- $R^1$  significa la cadena lateral de la L-serina con una protección O-tBu,  $R^2$  es Fmoc,  $R^5$  es metilo,  $R^6$  es hidrógeno, y  $R^7$  y  $R^8$  son ciclohexilo.
- $R^1$  significa la cadena lateral de la L-treonina con una protección O-tBu,  $R^2$  es Fmoc,  $R^5$  es H,  $R^6$  es hidrógeno, y  $R^7$  y  $R^8$  son ciclohexilo.
- $R^1$  significa la cadena lateral de la L-treonina con una protección O-tBu,  $R^2$  es Fmoc,  $R^5$  es metilo,  $R^6$  es hidrógeno, y  $R^7$  y  $R^8$  son ciclohexilo.

Paso b)

En el subsiguiente paso b), el ácido libre del dipéptido se libera en presencia de un ácido, y la amina protonada de



acetona y una temperatura interna de 35 °C a 40 °C, se enfrió a 20 °C y se trató con 13,5 ml de agua. El pH se ajustó a 1,0 ml de HCl 1M a pH 2-3 y la mezcla resultante se agitó durante 12 horas a 20 °C y se tomaron muestras. La suspensión se enfrió a continuación de -5 °C a 0 °C y se agitó durante 1 hora a esta temperatura. El precipitado se eliminó por filtración y el reactor y el filtro se enjuagaron con 5 ml de acetona fría (0 °C), el filtrado transparente e incoloro se añadió a 20 °C en 60 minutos a una solución de 13,57 g (127,8 mmoles) de L-serina y 13,63 g (257 mmoles) de carbonato de sodio en 122,5 ml de agua. La mezcla resultante se agitó durante 1 hora a 20 °C y se tomaron muestras. El pH se ajustó con 28 g de HCl (37%) a un pH 2-3, y el disolvente orgánico se eliminó a presión reducida (< 250 mbars) a una temperatura máxima de la camisa de 50 °C. La suspensión resultante se trató de 35 °C a 40 °C con 125 ml de acetato de etilo y la solución bifásica transparente resultante se enfrió a 20 °C. Las fases se separaron y la fase orgánica se extrajo dos veces con un total de 250 ml de acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron tres veces con un total de 225 ml de NaCl acuoso (10% p/p). La solución orgánica resultante se concentró y el disolvente se eliminó casi completamente a presión reducida a una temperatura máxima de la camisa de 50 °C. El residuo se disolvió en 250 ml de etanol, y de la solución resultante se eliminó una parte del disolvente (75 ml) de nuevo a presión reducida (aproximadamente 170 mbars) a una temperatura máxima de la camisa de 50 °C. La solución resultante se trató con 462,5 ml de etanol y se enfrió a 20 °C. Se añadió aproximadamente un 20% (aproximadamente 29,5 ml) de una solución de 11,83 g (63,9 mmoles) de dicitclohexilamina en 118 ml de etanol. La mezcla se sembró, después de lo cual el producto empezó a precipitar. La suspensión se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente y a continuación se añadió lentamente el resto de la solución de dicitclohexilamina durante por lo menos 2 horas. El embudo de goteo se enjugó con 25 ml de etanol. La temperatura interna se bajó a 0 °C en 4 horas, después de lo cual se agitó la suspensión durante la noche a esta temperatura. El precipitado se filtró con succión, la torta del filtro se lavó con 117,5 ml de etanol frío (0 °C) y se secó al vacío (50 °C, 20 mbars) obteniéndose 35,7 g (rendimiento 82% partiendo del ácido (S)-3-*terc*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonil-ami-no)-propiónico de 96,8% (p/p) de pureza, basada en la HPCL), de la sal de dicitclohexilamonio del ácido (S,S)-2-[3-*terc*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-propionil-ami-no]-3-hidroxi-propiónico (3), como un sólido incoloro.

El análisis HPLC se efectuó empleando un estándar externo de la sal de dicitclohexil-amonio del ácido (S,S)-2-[3-*terc*-butoxi-2-(9-H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-propionil-ami-no]-3-hidroxi-propiónico, pura (3). Condiciones para la HPLC: columna XBridge C18 (Waters), 4,6 x 150 mm, 3,5 µm; detección UV 206 nm; soluciones para el gradiente: agua (A), tampón de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mM, pH 2,5 (B), acetonitrilo (C); 1,0 ml/minuto; 20 °C.

Gradiente:

| T [min] | A [%] | B [%] | C [%] |
|---------|-------|-------|-------|
| 0       | 45    | 15    | 40    |
| 2       | 45    | 15    | 40    |
| 14      | 5     | 15    | 80    |
| 25      | 5     | 15    | 80    |

Tiempos de retención:

Sal de dicitclohexil-amonio del ácido (S,S)-2-[3-*terc*-butoxi-2-(9-H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-propionil-ami-no]-3-hidroxi-propiónico (3): 8,4 minutos  
Fmoc-L-Ser(tBu)-OH (1): 11,6 minutos

Este método de HPLC da como resultado un valor para el ensayo del ácido libre de (3). A partir de este valor, se calcula el ensayo de la correspondiente sal de dicitclohexil-amonio, asumiendo una relación estequiométrica de 1:1 entre el ácido libre y el dicitclohexilamonio.

Se utiliza un análisis GC empleando un estándar interno de dodecano, para medir el contenido en dicitclohexilamina. Condiciones para la GC: columna de sílice fundido, 100% de polidimetilsiloxano, 1 µm, L = 15 m, ID = 0,25 mm; gas portador hidrógeno, presión: 53 kPa, velocidad lineal: 73 cm/segundo, relación de split: 1: 100.

Programa de temperaturas:

| Velocidad de calentamiento [grados Celsius/minuto] | Temperatura final [°C] | Duración del paso isotérmico a la temperaturas final [minutos] |
|--|------------------------|--|
| 0,0  | 40                     | 1  |
| 50   | 240                    | 5  |
| 0,0  | 320                    | 10   |

Tiempos de retención:

Dodecano: 4,10 minutos

Diciclohexilamina: 4,90 minutos

### Ejemplo 2

5 Un reactor de vidrio de doble camisa, de 500 ml, equipado con un agitador mecánico, un termómetro de Pt-100, un condensador de reflujo, un embudo de goteo con un filtro de algodón, y una entrada de nitrógeno, se cargó con 25,0 g (37,0 mmoles) de sal de dicitohexilamonio del ácido (S,S)-2-[3-*tert*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-pro-pionil-amino]-3-hidroxi-propiónico (3), 100 ml de *tert*-butil metil éter y una solución de 4,70 g de ácido sulfúrico (96%) en 44,3 ml de agua. La mezcla se agitó durante 90 minutos a temperatura ambiente. La fase acuosa se separó y la fase orgánica se lavó dos veces con un total de 76 ml de cloruro de sodio acuoso (0,5% p/p) y de nuevo con 38 ml de agua. El disolvente orgánico se eliminó completamente a presión reducida (500 – 100 mbar) y a una temperatura de la camisa de 50 °C. El residuo espumoso se disolvió en 100 ml de tetrahidrofurano y el disolvente se eliminó de nuevo completamente a presión reducida (500 - 100 mbars) y una temperatura de la camisa de 50 °C. El residuo se disolvió en 450 ml de tetrahidrofurano y la solución transparente resultante se trató con 35,4 (333 mmoles) de 2,2 dimetoxipropano y 0,65 g (6,7 mmoles) de ácido metansulfónico. La mezcla se calentó a reflujo a una temperatura de la camisa de 85 °C, conduciendo el destilado sobre 73 g de tamiz molecular (0,4 nm). Después de 16 horas la solución de color ligeramente amarillo, se enfrió a 20° y se sacó una muestra, y la mezcla se trató con 0,828 g (8,14 mmoles) de trietilamina y se agitó durante 10 minutos. El disolvente se eliminó completamente a presión reducida (350 - 100 mbars) y a una temperatura de la camisa de 50 °C. El residuo se trató con 100 ml de *tert*-butilmetiléter y se concentró de nuevo completamente a presión reducida (350 - 100 mbars) y a una temperatura de la camisa de 50 °C. El residuo se disolvió en 175 ml de *tert*-butilmetiléter y se enfrió de 20 °C a 25 °C. La solución se trató con 87,5 ml de agua y se agitó durante 10 minutos. Las fases se separaron y la fase orgánica se concentró completamente a presión reducida (350 – 100 mbars) y a una temperatura de la camisa de 50 °C. El residuo espumoso se disolvió en 100 ml de *tert*-butilmetiléter y se concentró completamente a presión reducida (350- 100 mbars) y a una temperatura de la camisa de 50 °C. Este paso se repitió dos veces con un total de 200 ml de *tert*-butilmetiléter. El residuo se disolvió en 45,2 ml de *tert*-butilmetiléter de 20 °C a 25 °C y se trató con 22,6 ml de isopropanol. A esta temperatura, la solución se trató con 175 ml de pentano, se sembró, se continuó agitando durante por lo menos 15 minutos, y de nuevo se trató lentamente con 200 ml de pentano durante 1 hora. La solución resultante se agitó de 4 a 16 horas y a continuación se enfrió a 0 °C durante 1-2 horas, y de nuevo se agitó durante otras 2 horas a esta temperatura. El precipitado se filtró con succión, la torta del filtro se lavó en dos veces con un total de 60 ml de pentano frío (0 °C) y se secó al vacío (50 °C, 20 mbars), obteniéndose 14,3 g (rendimiento 75%, partiendo de la sal de dicitohexil-amonio del ácido (S,S)-2-[3-*tert*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-propionilamino]-3-hidroxi-propiónico, 98,7% (p/p) de pureza, basada en la HPLC) del ácido (S,S)-3-[3-*tert*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-propionil]-2,2-dimetil-oxazolidin-4-carboxílico (4) como un sólido incoloro.

El análisis HPLC se efectuó empleando un estándar externo del ácido (S,S)-3-[3-*tert*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilamino)-propionil]-2,2-dimetil-oxazolidina-4-carboxílico (4) puro. Condiciones de la HPLC: columna XBridge C18 (Waters), 4,6 x 150 mm, 3,5 µm; detección UV 206 nm; soluciones para el gradiente: agua (A), tampón de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 20 mM, pH 2,5 (B), acetonitrilo (C); flujo 1,0 ml/minuto; 20 °C.

Gradiente:

| T [min] | A [%] | B [%] | C [%] |
|---------|-------|-------|-------|
| 0       | 27    | 15    | 58    |
| 1       | 27    | 15    | 58    |
| 6       | 20    | 15    | 65    |
| 10      | 5     | 15    | 80    |
| 20      | 5     | 15    | 80    |
| 20,1    | 70    | 15    | 15    |
| 25      | 70    | 15    | 15    |

Tiempos de retención:

45 Ácido (S,S)-3-[3-*tert*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxi-carbonilamino)-propionil]-2,2-dimetil-oxazolidina-4-carboxílico (4): 7,3 minutos

Sal de dicitohexil-amonio del ácido (S,S)-2-[3-*tert*-butoxi-2-(9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonil-amino)-propionil-amino]-3-hidroxi-propiónico (3): 3,0 minutos.

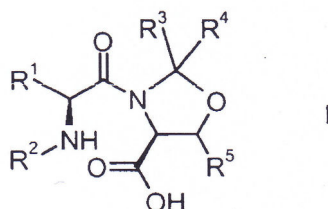
50 Fmoc-L-Ser (tBu)-OH (1): 5,6 minutos.



## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula:

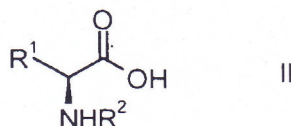
5



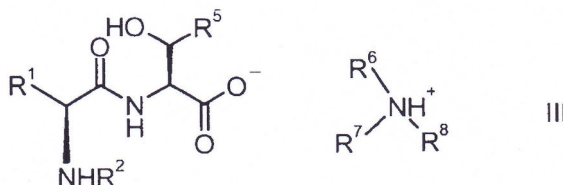
10 en donde R<sup>1</sup> es una cadena lateral de un alpha amino-ácido, R<sup>2</sup> es un grupo amino protector, y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> están seleccionados independientemente entre sí, del grupo formado por hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>5</sup> es hidrógeno o metilo, el cual comprende

15 a) la conversión de un derivado de aminoácido de fórmula

15



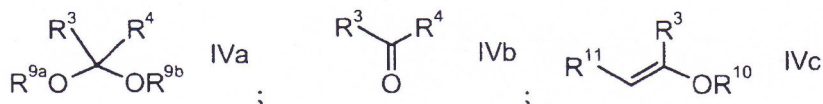
en donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se ha indicado más arriba, con serina o treonina, y cristalizando el dipéptido resultante como sal de amonio de fórmula



20 en donde R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>5</sup> son como se ha indicado más arriba, y R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son independientemente entre sí, seleccionados del grupo formado por hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono, con la condición de que no todos los R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> sean hidrógeno, en un paso subsiguiente,

25 b) liberando el ácido libre de la sal de amonio de fórmula III en presencia de un ácido y eliminando la amina por extracción, y

c) efectuando el cierre del anillo con un compuesto seleccionado entre

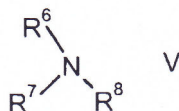


30 en donde R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se seleccionan, independientemente entre sí, del grupo formado por hidrógeno o alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, con la condición de que ambos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> no sean hidrógeno, R<sup>9a</sup> y R<sup>9b</sup> son, independientemente entre sí, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, R<sup>10</sup> tiene el significado de alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, alcanoilo de 1 a 4 átomos de carbono, o arilo, y R<sup>11</sup> es hidrógeno o alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, en presencia de un catalizador ácido.

35

- 5 2. El procedimiento de la reivindicación 1, **caracterizado porque**, R1 es una cadena lateral seleccionada entre el grupo formado por valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, asparagina, glutamina, ácido glutámico, histidina, lisina, arginina, ácido aspártico, alanina, serina, treonina, tirosina, triptófano, cisteína, glicina y ácido aminoisobutírico.
3. Procedimiento de la reivindicación 1 ó 2, **caracterizado porque**, R2 está seleccionado entre el grupo formado por Fmoc, Cbz, Moz, Boc, Troc, Teoc y de Voc.
- 10 4. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado porque**, el derivado de aminoácido de fórmula II se activa antes de su copulación con serina o treonina con un reactivo activador.
- 15 5. Procedimiento de la reivindicación 4, **caracterizado porque**, el reactivo activador está seleccionado del grupo formado por DIC/HOSu, DIC/pentafluorfenol, DIC/HOBt, DCC/ HOSu, DCC/pentafluorfenol, DCC/HOBt, EDC(xHCl)/HOSu ó HBTU/ HOBt.
6. Procedimiento de las reivindicaciones 4 y 5, **caracterizado porque**, el reactivo activador es el DIC/HOSu.
- 20 7. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado porque**, la relación entre la serina o la treonina y el derivado de aminoácido de fórmula I, se selecciona en el margen de 1,5 a 3,0 a 1.
8. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado porque**, la sal de amonio de fórmula III se forma por adición al dipéptido de una amina de fórmula

25



30

en donde R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son independientemente entre sí, seleccionados del grupo formado por hidrógeno, alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo de 3 a 7 átomos de carbono, con la condición de que no todos los R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> sean hidrógeno.

35

9. El procedimiento de la reivindicación 8, **caracterizado porque**, R6, R7 y R8 son independientemente entre sí, seleccionados del grupo formado por hidrógeno, etilo o ciclohexilo, con la condición de que no todos los R6, R7 y R8 sean hidrógeno.
10. Procedimiento de las reivindicaciones 8 a 9, **caracterizado porque**, se añade dicitohexilamina.

40

11. Procedimiento de las reivindicaciones 8 a 10, **caracterizado porque**, la cristalización tiene lugar en un disolvente orgánico seleccionado entre el grupo formado por metanol, etanol, n-propanol, i-propanol, acetato de etilo o tetrahidrofurano.

45

12. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 11, **caracterizado porque**, el ácido libre de la sal de amonio de fórmula III, se libera en presencia de un ácido mineral, se extrae con un disolvente orgánico, mientras que la amina se elimina por extracción con agua y/o una solución acuosa de una sal mineral.

50

13. El procedimiento de las reivindicaciones 1 a 12, **caracterizado porque**, el cierre del anillo se efectúa con 2,2-dimetoxipropano, 2-metoxipropano, ó 2-acetoxipropano.

55

14. El procedimiento de la reivindicación 13, **caracterizado porque**, el cierre del anillo tiene lugar con el 2,2-dimetoxipropano.
15. El procedimiento de las reivindicaciones 1 a 14, **caracterizado porque**, el catalizador ácido para el cierre del anillo se selecciona entre el grupo formado por el ácido metansulfónico, el ácido (+)alcanfor-10-sulfónico, el ácido p-toluensulfónico, el p-toluensulfonato de piridinio.

16. El procedimiento de las reivindicaciones 1 y 13 a 15, **caracterizado porque**, el cierre del anillo se efectúa en presencia de un disolvente orgánico.