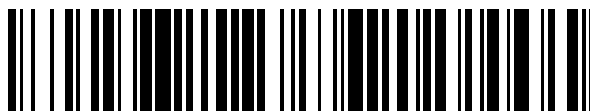


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 412**

51 Int. Cl.:

C07K 1/113

(2006.01)

C07K 7/06

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07765429 .1**

96 Fecha de presentación: **14.06.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2035442**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **18.03.2009**

54 Título: **NUEVOS REACTIVOS DE OXIDACIÓN SOBRE SOPORTE, PROCEDIMIENTO PARA SU PREPARACIÓN Y UTILIZACIONES DE LOS MISMOS.**

30 Prioridad:
14.06.2006 US 813371 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
29.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
29.02.2012

73 Titular/es:
**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS)
3, RUE MICHEL ANGE
75016 PARIS, FR;
UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER I y
GENEPEP**

72 Inventor/es:
**MARTINEZ, Jean;
SUBRA, Gilles;
CRISTAU, Michèle y
CANTEL, Sonia**

74 Agente: **Curell Aguilá, Mireia**

ES 2 375 412 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

Nuevos reactivos de oxidación sobre soporte, procedimiento para su preparación y utilizaciones de los mismos.

- 5 La presente invención se refiere a nuevos reactivos de oxidación sobre soporte, a los procedimientos para prepararlos y a su utilización para la formación de puentes disulfuro intramoleculares.

10 La utilización de reactivos sobre soporte se está extendiendo rápidamente en química orgánica, en particular desde la automatización de la síntesis orgánica. Los reactivos sobre soporte son de gran utilización ya que, después de la reacción, pueden eliminarse del medio de reacción por simple filtración. Algunos pueden incluso reciclarse y reutilizarse. En este caso, es ventajoso observar que estos reactivos sobre soporte están precisamente comprendidos en la estrategia del desarrollo de larga duración y respeto al medio ambiente.

15 Los reactivos sobre soporte son particularmente ventajosos para estimular reacciones intramoleculares. De hecho, son conocidos por dar lugar a un fenómeno de "pseudodilución" que permite minimizar polimerizaciones y utilizar cantidades mucho más pequeñas de disolventes.

20 La síntesis de péptidos es la causa de la síntesis sobre soporte. Actualmente está muy automatizada y el alargamiento de la cadena peptídica se realiza generalmente sobre un soporte sólido. Sin embargo, en determinados casos, las etapas finales de síntesis y tratamiento se llevan a cabo en solución, después del desacoplamiento de la cadena peptídica del soporte sólido. Este es en particular el caso de la formación de puentes disulfuro.

25 Debe apreciarse la gran ventaja biológica de puentes disulfuro en el campo de los péptidos. La actividad biológica de un péptido está relacionada con su estructura primaria, es decir con la serie de aminoácidos, y también con su estructura tridimensional. Esta última está condicionada por la presencia, en la misma cadena peptídica, de interacciones variadas tales como enlaces de hidrógeno o interacciones hidrófobas, y también por la existencia de enlaces covalentes tales como los implicados en puentes disulfuro. La presencia de estos puentes disulfuro permitirá al péptido estructurarse en el espacio y adoptar una configuración que permite adquirir una actividad biológica esencial para su participación en procesos fisiológicos variados.

30 Normalmente, la formación intramolecular de puentes disulfuro requiere condiciones de gran dilución y la presencia de un oxidante. Snow *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 1975, 64(1), 441, dan a conocer la oxidación de grupos -SH a disulfuros por sulfóxidos. El sulfóxido de dimetilo (SODM) es uno de los reactivos oxidantes más frecuentemente utilizado para esto. Este producto tiene la ventaja de ser soluble en agua. Uno de sus principales inconvenientes es su eliminación del medio de reacción, lo que requiere evaporación a intenso vacío o liofilizaciones repetidas. Además, el sulfuro de dimetilo generado durante la reacción es volátil y tóxico.

40 La utilización de reactivos de oxidación sobre soporte se ha considerado posteriormente para la síntesis convencional de péptidos bioactivos, pero también para la síntesis automática de bancos químicos de péptidos que llevan puentes disulfuro. Éstos presentan numerosas ventajas:

- 45 - ya que la formación de puentes disulfuro es una reacción intramolecular, estos reactivos sobre soporte evitan actuar en condiciones muy diluidas, minimizando el volumen de disolvente y permitiendo la miniaturización y la utilización de pocillos robot con un volumen que con frecuencia es pequeño;
- los reactivos sobre soporte permiten obtener los puentes en los péptidos y las proteínas en condiciones muy suaves y simples sin utilización de oxidantes tóxicos, malolientes y volátiles.
- 50 - los reactivos de oxidación sobre soporte pueden eliminarse sencillamente y no requieren ninguna liofilización o evaporación, lo que facilita en gran medida la automatización;
- los reactivos de oxidación sobre soporte pueden reciclarse y reoxidarse después de la utilización.

55 Hasta la fecha se han descrito pocos reactivos de oxidación sobre soporte que sean eficaces para la formación de puentes disulfuro.

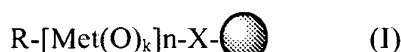
60 El ácido 6-(metilsulfinil)hexanoico, fijado sobre un soporte sólido de tipo polietilenglicol-poliestireno (PEG-PS), es un buen sustituto del SODM para la síntesis de cetonas por reacción de oxidación de Swern, pero no se ha utilizado para la formación de enlaces disulfuro (por ejemplo: Liu, Vederas, *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 7856; Choi, Toy, *Tetrahedron*, 2003, 59, 7171).

65 Únicamente el reactivo de Ellmann (ácido 5,5'-ditiobis (2-nitrobenzoico o DTNB), desarrollado inicialmente para la medición de la concentración de los tioles libres, ha sido adaptado para la formación de puentes disulfuro, como un reactivo de soporte (J. Peptide Res 63, 2004, p. 303-312). Permanece, sin embargo, de fabricación costosa e ineficaz relativamente comparado un método de oxidación convencional en solución utilizando SODM.

Por lo tanto continúan resultando todavía necesarios nuevos reactivos de oxidación sobre soporte, que son por lo menos tan eficaces como los reactivos utilizados en solución, son de fácil utilización y son económicos.

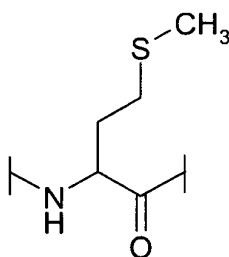
- 5 Se ha desarrollado la síntesis y la utilización de nuevos reactivos de oxidación sobre un soporte sólido y soluble, capaz de favorecer la formación de puentes disulfuro, en particular en péptidos. Estos reactivos pueden utilizarse en la síntesis convencional de péptidos con puentes disulfuro, pero también para la síntesis paralela de bancos de péptidos (por ejemplo, en placas de 96 ó 384 pocillos). Estos reactivos son fáciles de utilizar y producen productos de oxidación en condiciones mucho mejores que los reactivos existentes. Además, su coste, y la facilidad con la que se sintetizan y utilizan les hace reactivos elegidos para la formación de puentes disulfuro en péptidos. Estos reactivos están constituidos por una serie de metioninas oxidadas injertadas en un soporte sólido o líquido.

La presente invención se refiere por lo tanto a un reactivo de oxidación de fórmula (I):

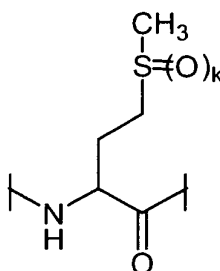


en la que,

- R representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de función amina,
- Met representa un resto de metionina de fórmula



- $[Met(O)_k]$ representa un resto de metionina oxidado de fórmula



-  representa un soporte sólido o soluble utilizado en síntesis orgánica,

- X representa un radical procedente de una función de tipo amina, hidroxilo o halógeno, capaz de anclar la metionina, entendiéndose que esta función que puede anclar la metionina puede separarse del soporte mediante un miembro funcionalizado o un separador, y

- n está comprendido entre 2 y menor de 10000, y

- k es 1 ó 2, o

- n es igual a 1 y k es igual a 2.

- En la presente invención, la expresión "grupo protector de función amina" hace referencia a cualquier sustituyente que proteja el grupo amina de la cadena peptídica frente a reacciones indeseadas. Los diversos grupos que están comprendidos en esta definición son ampliamente conocidos y están descritos, por ejemplo, en "Protective Groups In Organic Synthesis", John Wiley & Sons, Nueva York, 1981. De manera no limitativa, puede mencionarse la

protección de la función amina en forma de carbamatos, de amidas, de derivados N-alquilados, de aminoacetales, de derivados N-bencílicos, de iminas o de enaminas. Por lo tanto, entre los grupos protectores, pueden mencionarse los grupos alquilcarbonilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, alcóxicarbonilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, alquéniloxycarbonilo (C₂-C₆) lineal o ramificado, alquíniloxycarbonilo (C₂-C₆) lineal o ramificado, ariloxycarbonilo, arilalquilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, arilcarbonilo, arilsulfonilo, arilaminocarbonilo o alquilaminocarbonilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, permitiéndose que cada de estos grupos sea sustituido con uno o más átomos de halógeno o grupos hidroxilo, amino o mono- o dialquilamino (C₁-C₆) lineal o ramificado. A modo de ejemplo, se mencionan los grupos acetilo, benzoílo, fenilsulfonilo, terc-butiloxycarbonilo (BOC), benciloxycarbonilo (Z), para-metoxibenciloxycarbonilo, para-nitrobenciloxycarbonilo, tricloroetoxycarbonilo (TROC), aliloxycarbonilo (Alloc), 9-fluorometoxycarbonilo (Fmoc), trifluoroacetilo y grupos bencil carbamato.

En un aspecto preferido de la invención, cuando representa un grupo protector de función amina, el grupo R se seleccionará de entre los grupos alquilcarbonilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, alquinoxycarbonilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, alquéniloxycarbonilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, alquíniloxycarbonilo (C₁-C₆) lineal o ramificado y ariloxycarbonilo, permitiéndose en cada de estos grupos ser sustituidos con uno o más átomos de halógeno o grupos hidroxilo, amino o mono- o dialquilamino (C₁-C₆) lineales o ramificado. Pueden mencionarse, por ejemplo, los grupos acilo, acetilo, benciloxycarbonilo (Z), terc-butiloxycarbonilo (BOC) o 9-fluorometoxycarbonilo (Fmoc).

Los soportes sólidos o solubles adecuados para la realización de la presente invención se seleccionan de entre los soportes convencionalmente utilizados en química orgánica, y particularmente en síntesis de péptidos. Estos soportes utilizados en el contexto de la presente invención están funcionalizados con una función que puede anclar la metionina oxidada. A este respecto, se hace referencia a las funciones amina o alcohol, o también de átomos de halógeno sustituibles.

En la presente invención, la expresión "radical procedente de una función de tipo amina, hidroxilo o halógeno" hace referencia a un radical resultante del acoplamiento del resto de metionina a un soporte sólido funcionalizado con una función amino, una función hidroxilo o una función halógeno sustituible.

En un aspecto conveniente de la invención, X representa un radical NH.

En otro aspecto de la invención, X representa un átomo de oxígeno.

En otro aspecto conveniente de la invención, el soporte  se selecciona de entre soportes gelatinosos o macroporosos que tienen una matriz con una base de poliestireno, poliamida, polietilenglicol o de compuesto, permitiéndose que dichos soportes estén en forma de perlas, de soportes recubiertos de película tales como anillos o linternas, de tapones o de soportes solubles no reticulados y permitiendo que dicha matriz esté o no funcionalizada con un miembro funcionalizado.

En la invención, la expresión "miembro funcionalizado o separador" hace referencia a cualquier fragmento normalmente injertado al soporte sólido como se definió anteriormente, en particular los utilizados para síntesis de péptidos.

Como soporte adecuado para la realización de la invención, puede mencionarse más particularmente de resinas sin un miembro funcionalizado o resinas funcionalizadas tales como resinas de clorometil-poliestireno, alcohol benciloxibencílico poliestireno, aminometil-poliestireno o metilbencilhidrilamina-poliestireno, o resinas injertadas con un miembro funcionalizado seleccionado de entre la amida de Rink (significando Rink 4-[2',4'-dimetoxifenil-(9-fluorometiloxycarbonil)aminometil]fenoxi-), clorotritilo, hidroximetilbencilacetamida, amida de Sieber (significando Sieber 9-aminoxanten-3-iloxi), aminometil-3,5-dimetoxifenoxialquilo aminometil-3-dimetoxifenoxialquilo, hidroximetil-3,5-dimetoxifenoxialquilo, e hidroximetil-3-dimetoxifenoxialquilo.

Los tipos de soportes sólidos preferidos según la invención son:

- (i) uno de los dos tipos de perlas de resinas gelatinosa o macroporosa que tiene una matriz con una base de poliestireno, tal como aminometil-poliestireno o 4-metilbencilhidrilamina poliestireno o que tiene una matriz con una base de poliamida (PL) o de polietilenglicol (PEG) o si no soportes compuestos de tipo polietilenglicol-poliestireno (PEG-PS) o polietilenglicol- dimetilacrilamida (PEGA).

- (ii) o de tipo recubierto de película tal como linternas (lanterns) SynPhase® (Mimotopes).

Los soportes solubles preferidos utilizados para injertar las metioninas oxidadas son de tipo polietilenglicol (PEG).

El reactivo de oxidación según la presente invención comprende varias unidades de [Met(O)] o [Met(O)₂]. El número n de las mismas será inferior a 10.000, y preferentemente inferior a 1000. En un aspecto conveniente de la invención, n

es inferior a 100, y más particularmente inferior a 50. En otro aspecto conveniente de la invención, este número n está comprendido entre 2 y 15.

Como se indicó anteriormente, los reactivos de oxidación según la presente invención se pretende que favorezcan la formación de enlaces covalentes S-S entre dos puntos de la misma molécula. El objetivo de la formación de estos puentes disulfuro intramoleculares en particular consistirá en proporcionar una configuración espacial específica para dicha molécula.

Por lo tanto, la invención se refiere a la utilización de un reactivo de oxidación de fórmula (I) como se definió anteriormente, para la formación de puentes disulfuro intramoleculares. Más convenientemente, se refiere a la utilización de un reactivo de oxidación de fórmula (I) según la invención, para la formación de puentes disulfuro intramoleculares en péptidos y/o proteínas. Por último un aspecto particularmente conveniente de la invención se refiere a la utilización de un reactivo de oxidación de fórmula (I) como se definió anteriormente para la preparación de una peptidoteca que comprende por lo menos un puente disulfuro intramolecular, por síntesis en paralelo de alto rendimiento.

Al multiplicar el número de compuesto sintetizados simultáneamente, las técnicas de síntesis en paralelo automáticas o manuales permiten generar rápidamente amplias colecciones de compuestos. Estas técnicas han sido de gran utilidad para la búsqueda de nuevos compuestos biológicamente activos permitiendo la modulación estructural de compuestos de plomo, pero se utilizan también para la optimización de condiciones de reacción. La miniaturización y robotización han contribuido al éxito de la síntesis en paralelo, pero una de las claves de su eficacia radica en la simplificación de las tareas con objeto de facilitar su automatización. Por lo tanto, la utilización de reactivos sobre soporte o de resinas que impiden las etapas delicadas de purificación permite, cuando esto es posible, aumentar la productividad y la rapidez de síntesis en paralelo.

La presente invención se refiere además al procedimiento para la preparación de los reactivos de oxidación de fórmula (I). Se han desarrollado varias rutas sintéticas. Los expertos en la materia seleccionarán las síntesis más adecuadas, según la naturaleza del reactivo de oxidación que se desea obtener, para la disponibilidad de las materias primas de partida y para los soportes utilizados.

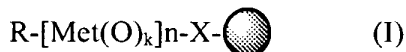
Un primer procedimiento para la preparación de un reactivo de oxidación de fórmula (I) se caracteriza porque el compuesto de fórmula (II):



en la que R, n y X son como se definieron anteriormente, y



se somete a una reacción de oxidación, para proporcionar el compuesto de fórmula (I):

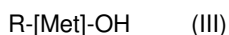


en la que R, n, k, X y [molécula] son como se definieron anteriormente.

La reacción de oxidación puede llevarse a cabo utilizando cualquier reactivo de oxidación suave convencionalmente utilizado para obtener un derivado sulfóxido ($k=1$) y en un aspecto conveniente, se llevará a cabo con peróxido de hidrógeno acuoso.

La reacción de oxidación puede llevarse a cabo utilizando cualquier reactivo de oxidación más fuerte para obtener un derivado de sulfona ($k=2$), y en un aspecto conveniente se llevará a cabo con MCPBA (ácido metacloroperbenzoico).

El compuesto de fórmula (II) se prepara de dos maneras diferentes. La primera ruta sintética, utiliza, como sustrato, el compuesto de fórmula (III):



en la que R es como se definió anteriormente,

que,

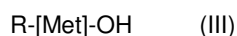
por reacción con un soporte de fórmula $\text{HX}-\text{X}$, en la que X y X tienen el mismo significado que anteriormente,

5 para proporcionar el compuesto de fórmula (IV):



en la que R, X y X son como se definieron anteriormente,

10 cuyo compuesto de fórmula (IV), después de la desprotección por escisión del grupo R, se somete a una serie de reacciones con un compuesto de fórmula (III):



15 en la que R es como se definió anteriormente,

repetiéndose la reacción n-1 veces para proporcionar un compuesto de fórmula (II):

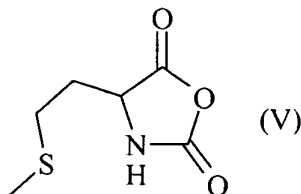


20 en la que R, X y X son como se definieron anteriormente,

sobreentendiéndose que el grupo protector R puede eliminarse y/o modificarse en cualquier momento de la síntesis dependiendo de los reactivos utilizados.

25 En el procedimiento anterior, el compuesto de fórmula (III), la parte R del terminal N de la que está en forma protegida, por ejemplo protegida con un grupo Fmoc, se injerta en el soporte sólido utilizando una reacción de acoplamiento del péptido que implica un agente de acoplamiento (por ejemplo, hexafluorofosfato de 1-H-benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (BOP)) en un medio básico. El grupo protector con función amina se elimina a continuación a fin de que pueda utilizar de nuevo el derivado (IV) desprotegido en una reacción de acoplamiento con el mismo compuesto de fórmula (III) protegido en su parte del terminal N en forma de Fmoc.

30 El segundo procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (II) anterior consiste en hacer reaccionar el N-carboxianhídrido de fórmula (V):



35 por polimerización en presencia de un soporte de fórmula $\text{HX}-\text{X}$, en el que X y X tienen el mismo significado que anteriormente, en un disolvente tal como THF, durante un periodo de entre 12 y 48 horas,

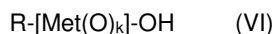
40 para proporcionar un compuesto de fórmula (II'):



45 análogo del compuesto de fórmula (II) en la que R representa un átomo de hidrógeno, siendo posible que éste último se sustituya con un grupo protector, para proporcionar un compuesto de fórmula (II) tal como se definió anteriormente.

En esta alternativa al procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (II), el compuesto de fórmula (V) se hace reaccionar con una resina funcionalizada, por ejemplo funcionalizada con una amina primaria para dar el polímero de fórmula (II). La longitud del polímero, es decir el valor del número n, depende de la concentración del compuesto de fórmula (V) en relación con la carga de amina primaria, y de las condiciones de operación tales como la duración y la temperatura de la reacción, o del disolvente utilizado.

Un segundo procedimiento para la preparación de un reactivo de oxidación de fórmula (I) se caracteriza porque el compuesto de fórmula (VI):



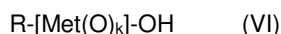
en la que R y k son como se definieron anteriormente, y k es 1 ó 2

se condensa con un soporte de fórmula $\text{HX}-\text{X}$, en la que X y X tienen el mismo significado que anteriormente, para proporcionar un compuesto de fórmula (VII):



en la que R, k, X y X son como se definieron anteriormente,

cuyo compuesto de fórmula (VII), después de la desprotección por escisión del grupo R, se somete a una serie de reacciones con un compuesto de fórmula (VI):

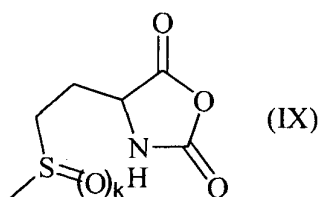


en la que R y k son como se definieron anteriormente,

mediante un procedimiento convencional de acoplamiento de péptidos, en presencia de un agente de acoplamiento, repitiéndose la reacción n-1 veces, para proporcionar un compuesto de fórmula (I) como se definió anteriormente.

Este segundo procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (I) es similar al primer procedimiento descrito anteriormente, y utiliza, como sustrato, un derivado de metionina ya oxidado de fórmula (VI), que se injerta por acoplamiento del péptido en un soporte funcionalizado con una función amina en condiciones similares a las mencionadas anteriormente durante el primer procedimiento de producción.

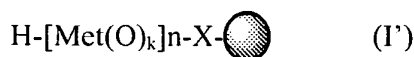
Un tercer procedimiento para la preparación de un reactivo de oxidación de fórmula (I) se caracteriza porque el compuesto de fórmula (IX):



en la que k es como se definió anteriormente,

se polimeriza en presencia de un soporte de fórmula $\text{HX}-\text{X}$, en la que X y X tienen el mismo significado que anteriormente, en un disolvente tal como THF, durante un periodo de entre 12 y 48 horas,

para proporcionar un compuesto de fórmula (I'):

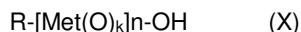


en la que n, k, X y X son como se definieron anteriormente,

cuya parte del terminal N del compuesto (I') está protegido con un grupo R, para proporcionar un compuesto de fórmula (I) como se definió anteriormente.

- 5 Las condiciones de operación de este tercer procedimiento de producción son similares a las mencionadas anteriormente para el compuesto de fórmula (V), siendo la única diferencia que el sustrato de fórmula (IX) procede de la metionina oxidada.

10 Un cuarto procedimiento para preparar un reactivo de oxidación de fórmula (I) se caracteriza porque el compuesto de fórmula (X):



en la que R, n y k son como se definieron anteriormente,

15 reacciona con un soporte de fórmula HX- , en el que X y  tienen el mismo significado que anteriormente, para proporcionar el compuesto de fórmula (I) como se definió anteriormente.

20 El compuesto de fórmula (X) definido anteriormente puede obtenerse según un primer esquema de síntesis, mediante una serie de reacciones consistentes en la condensación del compuesto de fórmula (III'):



25 en la que R' representa un grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) lineal o ramificado, alquenilo ($\text{C}_2\text{-C}_6$) lineal o ramificado, bencilo, carboxiamido metilo o éster de amida bencihidril glicol,

con un compuesto de fórmula (III):



en la que R es como se definió anteriormente,

35 por medio de un procedimiento convencional de acoplamiento de péptidos, en presencia de un agente de acoplamiento, repitiéndose la reacción n-1 veces, para dar, después de la protección de la función del terminal C, un compuesto de fórmula (XI):

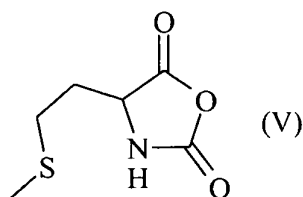


40 en la que R, R' y n son como se definieron anteriormente, sobreentendiéndose que R es diferente de un átomo de hidrógeno,

cuyo compuesto de fórmula (XI) se somete a una reacción de oxidación, seguida de una reacción de desprotección por escisión del grupo R', para proporcionar un compuesto de fórmula (X) definido anteriormente.

45 El procedimiento anterior de preparación del compuesto de fórmula (X) utiliza las tecnologías convencionales de síntesis de péptidos en solución. Las partes del terminal N (grupo R) y terminal C (grupo R') están alternativamente en la forma protegida o no protegida, a fin de permitir una policondensación para proporcionar un compuesto peptídico de fórmula (XI), que se oxida a continuación mediante un procedimiento adecuado, por ejemplo con peróxido de hidrógeno acuoso, para proporcionar el compuesto (X).

50 El compuesto de fórmula (XI) mencionado anteriormente puede prepararse también a partir del N-carboxianhídrido de fórmula (V):



55

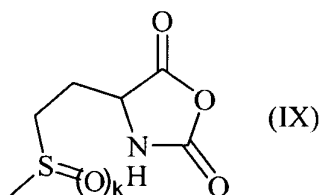
cuyo compuesto de fórmula (V) se deja al aire libre sin disolvente durante 2 días, para proporcionar, por medio de una reacción de polimerización espontánea iniciada por la humedad del aire, el compuesto de fórmula (XI'):



en la que n es como se definió anteriormente,

un análogo del compuesto de fórmula (XI) para el que cada R y R' representan cada uno un átomo de hidrógeno, siendo posible que este último sea sustituido por un grupo protector, para proporcionar un compuesto de fórmula (XI) definido anteriormente.

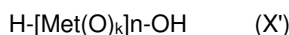
El compuesto de fórmula (X) definido anteriormente puede obtenerse también por medio de un segundo procedimiento, por polimerización del N-carboxianhídrido de fórmula (IX):



en el que k es como se definió anteriormente,

que se deja al aire libre sin disolvente durante 2 días, iniciándose la reacción de polimerización espontánea por mezcla en el aire,

para proporcionar un compuesto de fórmula (X'):



en la que n y k son como se definieron anteriormente,

cuya parte del terminal N está protegida con un grupo R, para proporcionar un compuesto de fórmula (X) definido anteriormente.

Este procedimiento para preparar el compuesto de fórmula (X) a partir del N-carboxianhídrido de fórmula (IX) se lleva a cabo en condiciones similares a las mencionadas anteriormente para la preparación del compuesto de fórmula (XI) descrito anteriormente.

Los ejemplos siguientes son proporcionados a título ilustrativo de la invención. En la presente memoria se describe la preparación de un reactivo de oxidación sobre soporte.

Las secuencias peptídicas modelo se seleccionaron a continuación a partir de péptidos naturales que tienen dos cisteínas y con objeto de intentar ciclarlos rápidamente con los reactivos de fórmula (I) sobre soporte sólido según la invención. Los resultados obtenidos se compararon con los procedimientos descritos para la oxidación de péptidos utilizando SODM o el reactivo sobre soporte de ELLMAN. Para todos estos péptidos, los reactivos sobre soporte según la invención han demostrado ser mucho más sencillos de utilizar, con la posibilidad de automatizar el procedimiento de formación de los enlaces disulfuro en paralelo. Asimismo, producen mejores rendimientos y una mayor pureza de los péptidos reciclados, sin la utilización de grandes diluciones normalmente necesarias con objeto de impedir la formación de polímeros.

Ejemplo 1: Preparación de un reactivo de oxidación sobre soporte tipo sulfóxido (k=1) en resina Rink de amida-PS

Etapas 1: Protocolo para polimerización de metionina N-carboxianhídrido en resina Rink de amida-PS

La metionina N-carboxianhídrido (Met-NCA) se disuelve en una cantidad mínima de THF anhidro (40 ml para 7 g de anhídrido) en argón, a continuación se añade la resina (1/100 equivalentes con relación a Met-NCA) y toda la mezcla se agita durante 48 horas.

Se lava a continuación la resina con los disolventes siguientes: tetrahidrofurano, dimetilformamida, metanol y a continuación diclorometano.

La resina Rink de amida-PS utilizada tiene una carga de función amina primaria de 0,98 mmoles/g.

En la resina funcionalizada de este modo, se escinde una alícuota utilizando ácido trifluoroacético y se analiza por espectrometría de masas ES+ de introducción directa y espectrometría de masas MALDI-Tof.

5 Resultados obtenidos

La introducción directa en modo electroatomización positiva en un espectrómetro de masas Micromass Platform II muestra la presencia de iones con una sola carga $[M+H]^+ = 149,0, 280,0, 419,0, 541,9, 672,9, 804,0, 935,0$ correspondientes a los polímeros de metionina amidada del terminal C oscilando n entre 1 y 7.

El análisis por espectrometría de masas MALDI-Tof utilizando una matriz de ácido 2,5-dihidroxibenzoico muestra también la presencia de iones con una sola carga procedentes de la cationización por sodio y potasio $[M+Na]^+$ y $[M+K]^+$ para los polímeros de metionina amidados en el terminal C estando comprendido n entre 5 y 9.

15 Etapas 2: Acetilación de la resina

La resina obtenida en la etapa 1, que lleva polímeros de metionina, se acetila durante 5 minutos con una solución ácido acético/diclorometano 50/50 (20 ml durante 1,5 g de resina seca en un desecador) en reactores rotativos en fase sólida y a continuación se filtra. La acetilación se comienza de nuevo durante 10 minutos. La resina se lava a continuación dos veces con diclorometano, dos veces con metanol y a continuación dos veces con diclorometano.

25 Etapas 3: Oxidación suave de la a sulfóxido de polimetionina sobre soporte (k=1)

La resina obtenida en la etapa 2 se coloca a continuación en peróxido de hidrógeno acuoso al 35% en peso (20 ml para 1,5 g de resina seca en un desecador) y se deja agitar durante 1 h 30 min. La resina se lava a continuación dos veces con diclorometano, dos veces con metanol y a continuación dos veces con diclorometano.

La resina obtenida de este modo puede utilizarse directamente para formar enlaces disulfuro intramoleculares.

30 **Ejemplo 2:** Preparación de un reactivo de oxidación sobre soporte en resina amino-PEG-PS

El reactivo de oxidación sobre soporte en resina amino-PEG-PS (polietilenglicol-poliéstereno) se obtiene según un protocolo idéntico al descrito en el ejemplo 1, sustituyendo la resina de amida-PS de Rink por una resina de amino-PEG-PS con una carga de función de amina primaria de 0,19 mmoles/g.

35 **Ejemplo 3:** Preparación de un reactivo de oxidación sobre soporte en resina amino-PEG-PS de tipo NovaSyn®

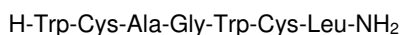
El reactivo de oxidación sobre soporte en resina amino-PEG-PS de tipo NovaSyn® se obtiene según un protocolo idéntico al descrito en el ejemplo 1, sustituyendo la resina de amida-PS de Rink por una resina de amino-PEG-PS de tipo NovaSyn® con una carga de función de amina primaria de 0,3 mmoles/g. Esta resina se diferencia de la resina utilizada en el ejemplo 2 en virtud de la relación entre el polietilenglicol y el poliestireno, que es de tipo feniletilo en lugar de bencilo.

45 **Ejemplo 4:** Preparación de un reactivo de oxidación sobre soporte en resina PL-PEGA

El reactivo de oxidación sobre soporte en resina PL-PEGA (copolímero poliamida-polietilenglicol) se obtiene según un protocolo idéntico al descrito en el ejemplo 1, sustituyendo la resina de amida-PS de Rink por una resina PL-PEGA con una carga de función de amina primaria de 0,2 mmoles/g.

50 **Ejemplo 5:** Ciclación de un péptido por formación de puentes disulfuro

El reactivo de oxidación sobre soporte obtenido en el ejemplo 4 se utilizó para formar un puente intramolecular entre las dos cisteínas del siguiente péptido modelo:



El péptido modelo se disolvió en una mezcla agua/acetonitrilo 75/25 a una concentración de 2,5 mM. 2 ml de esta solución (5 μ moles) se agitaron (600 rpm) con 50 mg de reactivo sobre soporte obtenido en el ejemplo 4 (2 equivalentes (10 μ moles) calculados a partir de la carga teórica del reactivo del ejemplo 4). El mismo reactivo se realizó sin reactivo sobre soporte. Se tomaron muestras de cada matraz a $t = 2 \text{ h } 45'$ y $t = 50 \text{ h } 30'$. El péptido oxidado ciclado $[M+H]^+ = 835,35$ y el péptido no oxidado $[M+H]^+ = 837,35$ se detectaron por acoplamiento LC/MS en modo ES+. El porcentaje de péptido oxidado se estimó comparando las áreas de los picos cromatográficos $[M+H]^+ = 835,35$ obtenidos a 214 nm.

Los resultados se comunican en la tabla (I) a continuación:

Tabla (I): porcentaje de péptido oxidado en función del reactivo de oxidación

	t = 2 h 45'	t = 2 h 45'	t = 50 h 30'	t = 50 h 30'
Reactivo de oxidación	Ej. 4	-	Ej. 4	-
% péptido oxidado	91%	5%	100%	11%

- 5 Se pudo observar que el reactivo Poli-Met(O) sobre soporte en las resina PL-PEGA pudo formar los puentes disulfuro en el péptido modelo con un rendimiento de 91% después de 2 h 45' de reacción a temperatura ambiente. No se detectó ningún otro subproducto. El rendimiento es cuantitativo para más de 50 horas.

Ejemplo 6: Ciclación del péptido CCAP por formación de puentes disulfuro

- 10 La fórmula del péptido CCAP es la siguiente:



- 15 Se llevaron a cabo seis experimentos en paralelo, combinando 2 tampones y 3 reactivos de oxidación.

- Tampón A, pH = 6,07

- 20 Solución de 100 ml de ácido acético al 5% al que se añade $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ hasta que se alcanza el pH deseado de 6,3 (aproximadamente 5 g).

- Tampón B, pH = 7,54

- 25 Solución 1: 2,4 g de NaH_2PO_4 en 100 ml de agua milliQ

Solución 2: 2,84 g de Na_2HPO_4 en 100 ml de agua milliQ

- Se añaden 42 ml de solución 2 a 8 ml de solución 1, y se prepara el volumen de la mezcla hasta 100 ml con agua en un matraz volumétrico.

- 30 Se probaron en paralelo 3 reactivos de oxidación:

- SODM en solución al 10% en el tampón seleccionado,

- 35 - reactivo de Ellman sobre soporte

- Ac-[Met(O)]₅ sobre soporte en NH_2 -PEG-PS

- 40 El péptido CCAP se disuelve en los tampones a una concentración de 3 mM y alícuotas de 2 ml de la solución obtenida se distribuyen en cada uno de los 6 reactores "minibloque" BOHDAN en paralelo. Los tres reactivos de oxidación se utilizaron a razón de 5 equivalentes con relación a la cantidad de péptido que va a oxidarse. La cantidad de reactivo (5 eq.) sobre soporte se calcula con relación a la carga de la resina.

- 45 Por lo tanto, se añadieron 125 mg (5 eq.) de Ac-[Met(O)]₅ sobre soporte en NH_2 -PEG-PS funcionalizada a razón de 0,24 mmoles/g a 2 ml de solución de péptido CCAP. Se añadieron 150 mg (5 eq.) de reactivo de Ellman sobre soporte funcionalizado a razón de 0,20 mmoles/g a 2 ml de solución de péptido CCAP.

- 50 Los seis reactores se agitaron en un agitador orbital (600 rpm) a temperatura ambiente durante 45 horas y las muestras de 40 µl preparadas hasta 200 µl con una solución de $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}$ (50/50) y a continuación filtradas se sometieron inmediatamente a análisis LC/MS. Los experimentos de LC/MS se realizaron en un espectrómetro de masas cuadrupolar/tiempo de vuelo de tipo Micromass Q-ToF acoplado a un sistema HPLC de Waters Alliance. Estos análisis permitieron cuantificar la presencia del péptido oxidado ciclado en función del tiempo. El porcentaje de péptido oxidado proporcionado en los resultados de la Tabla (II) se calculó en función de las áreas de los picos cromatográficos obtenidos a 214 nm. Por lo tanto este valor tiene en cuenta la posible presencia de subproductos, pero no la presencia de SODM, en las muestras 3 y 4.

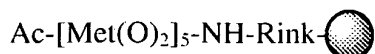
Tabla (II) Porcentaje de péptido oxidado en función del reactivo de oxidación

Nº Exp.	Oxidante	Tampón	15 min.	4 h	26 h
1	Ellman sobre soporte	A	54%	89%	79%
2		B	58%	69%	56%
3	10% SODM	A	13%	52%	79%
4		B	15%	47%	56%
5	[Met(O)] ₅ -PEG-PS	A	22%	68%	100%
6		B	40%	72%	86%

En las condiciones ensayadas, el reactivo sobre soporte según la invención que lleva 5 metioninas oxidadas demuestra ser más rápido que SODM en solución y menos rápido que el reactivo de Ellman sobre soporte. Por otra parte, es el único que permite la formación cuantitativa del péptido ciclado en 26 horas sin ningún subproducto de reacción en un tampón a pH = 6,07.

Los cromatogramas obtenidos confirman, en este caso, la ausencia de estos subproductos, en particular la ausencia del dímero covalente procedente de una reacción intermolecular entre dos péptidos CCAP.

Ejemplo 7: Preparación de un reactivo de oxidación sobre soporte tipo sulfona (k=2) en la resina amida de Rink-PS



Etapas 1: Acoplamiento del residuo de sulfona de metionina en la resina amida de Rink-PS.

Se hincharon 100 mg de resina AM-PS Fmoc-amida de Rink con 0,6 mmoles/g durante 10 minutos en diclorometano y se sometieron a un ciclo de desprotección convencional (1,2 ml de solución de DMF/piperidina 80/20 v/v durante 20 minutos). La resina se lava a continuación dos veces con dimetilformamida, dos veces con metanol y a continuación dos veces con diclorometano. Después de la etapa de lavado, el derivado sulfonado de metionina protegida con N-Fmoc se cargó en la resina mediante un ciclo de acoplamiento convencional, utilizando 400 µl de solución 0,5 M de metionina sulfona protegida con N-Fmoc en dimetilformamida; 400 µl de solución 0,5 M de sulfona de N-metil-formalina en dimetilformamida y 400 µl de solución 0,5 M de HBTU en dimetilformamida. El tiempo de acoplamiento fue de 90 min. Se lavó la resina como es habitual y se eliminó el grupo protector N-Fmoc al desprotegerlo con 1,2 ml de solución de DMF/piperidina 80/20 v/v durante 20 minutos.

Etapas 2: Alargamiento paso a paso del polímero de polimetionina sulfona

La resina obtenida en la etapa I se sometió a cuatro ciclos sucesivos de síntesis de péptidos en fase sólida convencional.

Cada ciclo se compone de una etapa de acoplamiento seguida la etapa de desprotección de N-Fmoc.

- Etapas de acoplamiento: Se añadió la resina a 400 µl de solución 0,5 M de sulfona de metionina protegida con N-Fmoc en dimetilformamida; 400 µl de solución 0,5 M de N-metilmorfolina en dimetilformamida y 400 µl de solución 0,5 M de HBTU en dimetilformamida. El tiempo de acoplamiento fue de 90 min. La resina se lavó dos veces a continuación con dimetilformamida, dos veces con metanol y a continuación dos veces con diclorometano.

- Etapas de desprotección: Se realizó utilizando 1,2 ml de solución de DMF/piperidina 80/20 v/v durante 20 minutos, la resina se lavó a continuación como es habitual dos veces con dimetilformamida, dos veces con metanol y a continuación dos veces con diclorometano.

Etapas 3: Acetilación de la resina

La resina obtenida en la etapa 1, portadora de polímeros de metionina sulfona, se acetila durante 5 minutos con una solución de ácido acético/diclorometano 50/50 (20 ml para 1,5 g de resina seca en un desecador) en reactores rotativos en fase sólida y a continuación se filtra. La acetilación se comienza otra vez durante 10 minutos. La resina se lava a continuación dos veces con diclorometano, dos veces con metanol y a continuación dos veces con diclorometano.

Ejemplo 8: Ciclación del péptido CCAP por formación de puentes disulfuro con reactivo sobre soporte tipo sulfona y sulfóxido

La fórmula del péptido CCAP es la siguiente:

H-Pro-Phe-Cys-Asn-Ala-Phe-Thr-Gly-Cys-NH₂

Se llevaron a cabo tres experimentos en tampón B del ejemplo 6 con 3 reactivos de oxidación diferentes.

- SODM en solución al 10% en el tampón seleccionado,

- Ac-Met(O) sobre soporte en NH₂-PL-PEGA

- Ac-Met(O)₂ sobre soporte en NH₂-PL-PEGA

El péptido CCAP se disuelve en tampón a una concentración de 3 mM y alícuotas de 2 ml de la solución obtenida se distribuyen en cada una de las 3 jeringuillas de plástico en paralelo. Los dos reactivos de oxidación sobre soporte se utilizaron a razón de 5 equivalentes con relación a la cantidad de péptido que va a oxidarse. La cantidad de reactivo (5 eq.) sobre soporte se calcula con relación a la carga de la resina.

Por lo tanto, se añadieron 75 mg (5 eq.) de Ac-Met(O) o Ac-Met(O)₂ sobre soporte en NH₂-PL-PEGA funcionalizada a razón de 0,4 mmoles/g a 2 ml de solución de péptido CCAP. Los tres reactores se agitaron en un agitador orbital (600 rpm) a temperatura ambiente durante 96 horas y muestras de 40 µl preparadas hasta 200 µl con una solución de CH₃CN/H₂O (50/50) y a continuación filtradas se sometieron inmediatamente a análisis LC/MS. Los experimentos de LC/MS se realizaron en un espectrómetro de masas cuadrupolar/tiempo de vuelo de tipo Micromass Q-ToF acoplado a un sistema HPLC de Waters Alliance. Estos análisis permitieron cuantificar la presencia del péptido oxidado ciclado en función del tiempo. El porcentaje de péptido oxidado proporcionado en los resultados de la Tabla (III) se calculó en función de las áreas de los picos cromatográficos obtenidos a 214 nm. Por lo tanto este valor tiene en cuenta la posible presencia de subproductos, pero no la presencia de SODM, en el experimento nº 1.

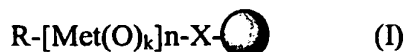
Tabla (III) Porcentaje de péptido oxidado en función del reactivo de oxidación

Nº Exp.	Oxidante	30 s	30 min.	240 min.	96 h
1	10% SODM		14	30	100
2	Met(O ₂)	5	26	62	100
3	Met(O)	5	20	55	100

En las condiciones ensayadas, el reactivo sobre soporte según la invención portador únicamente de un derivado sulfonado de metionina (experimento nº 2) demuestra ser más rápido que SODM en solución y ligeramente más rápido que las contrapartidas de sulfóxido de metionina. Los cromatogramas obtenidos confirman, en este caso, la ausencia de estos subproductos, en particular la ausencia del dímero covalente procedente de una reacción intermolecular entre dos péptidos CCAP.

REIVINDICACIONES

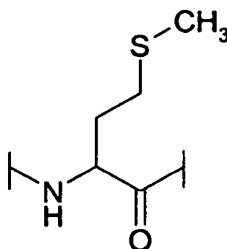
1. Reactivo de oxidación de fórmula (I):



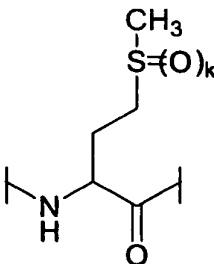
en la que,

• R representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de función amina, seleccionado ventajosamente de entre los grupos alquilcarbonilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) lineal o ramificado, alquinoxicarbonilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) lineal o ramificado, alquinoxicarbonilo ($\text{C}_2\text{-C}_6$) lineal o ramificado, alquinoxicarbonilo ($\text{C}_2\text{-C}_6$) lineal o ramificado y ariloxicarbonilo, resultando posible para cada de estos grupos estar sustituido con uno o más átomos de halógeno o grupos hidroxilo, amino o mono- o dialquilamino ($\text{C}_1\text{-C}_6$) lineales o ramificados, en particular seleccionados de entre un átomo de hidrógeno y grupos acilo, acetilo, benciloxicarbonilo, terc-butiloxicarbonilo y 9-fluorenilmetiloxicarbonilo.

• Met representa un resto de metionina de fórmula



• $[\text{Met}(\text{O})_k]$ representa un resto de metionina oxidado de fórmula



• ● representa un soporte sólido o soluble utilizado en síntesis orgánica, seleccionado ventajosamente de entre soportes gelatinosos o macroporosos que presentan una matriz con una base de poliestireno, poliamida, polietilenglicol o de compuesto, resultando posible para dichos soportes encontrarse en forma de perlas, de soportes recubiertos de película tales como anillos o linternas, de tapones o de soportes solubles no reticulados y resultando posible para dicha matriz estar funcionalizada o no funcionalizada con un miembro funcionalizado, en particular una resina sin un miembro funcionalizado o una resina funcionalizada tales como resinas de clorometil-poliestireno, alcohol benciloxibencílico poliestireno, aminometil-poliestireno o metilbencilhidrilamina-poliestireno, o resinas injertadas con un miembro funcionalizado seleccionado de entre la amida de Rink, clorotritilo, hidroximetilbencilacetamida, amida de Sieber, aminometil-3,5-dimetoxifenoxialquilo, aminometil-3-dimetoxifenoxialquilo, hidroximetil-3,5-dimetoxifenoxialquilo e hidroximetil-3-dimetoxifenoxialquilo.

• X representa un radical procedente de una función de tipo amina, hidroxilo o halógeno, que puede anclar la metionina, entendiéndose que esta función que puede anclar la metionina puede separarse del soporte mediante un miembro funcionalizado o un separador,

• n está comprendido entre 2 y menos de 10.000, y

• k es 1 ó 2, o

• n es igual a 1 y k es igual a 2.

2. Utilización de un reactivo de oxidación según la reivindicación 1, para la formación de puentes disulfuro

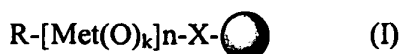
intramoleculares, ventajosamente en péptidos y/o proteínas, en particular para la preparación de una peptidoteca que comprende por lo menos un puente disulfuro intramolecular, por síntesis en paralelo de alto rendimiento.

3. Procedimiento para la preparación de un reactivo de oxidación según la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de fórmula (II)



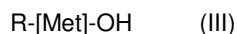
en la que R, n, [Support] y X son como se definieron en la reivindicación 1,

- se somete a una reacción de oxidación, para proporcionar el compuesto de fórmula (I):



en la que R, n, k y X son como se definieron en la reivindicación 1.

4. Procedimiento de preparación según la reivindicación 3, caracterizado porque el compuesto de fórmula (II) se prepara a partir del compuesto de fórmula (III):



en la que R es como se definió en la reivindicación 1,

por reacción con un soporte de fórmula $HX-\text{[Support]}$, en la que X y [Support] tienen el mismo significado que en la reivindicación 1,

- para proporcionar el compuesto de fórmula (IV):



en la que R, X y [Support] son como se definieron anteriormente,

- siendo dicho compuesto de fórmula (IV), después de la desprotección por escisión del grupo R, sometido a una serie de reacciones con un compuesto de fórmula (III):



- en la que R es como se definió anteriormente,

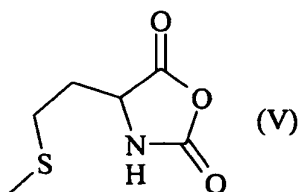
repitiéndose la reacción n-1 veces para proporcionar un compuesto de fórmula (II):



- en la que R, X y [Support] son como se definieron anteriormente,

sobreentendiéndose que el grupo protector R puede eliminarse y/o modificarse en cualquier momento de la síntesis dependiendo de los reactivos utilizados.

5. Procedimiento de preparación según la reivindicación 3, caracterizado porque el compuesto de fórmula (II) se prepara a partir del N-carboxianhídrido de fórmula (V):



por polimerización en presencia de un soporte de fórmula $\text{HX}-\text{C}_6\text{H}_5$, en la que X y C_6H_5 tienen el mismo significado que en la reivindicación 1, en un disolvente tal como THF, durante un periodo de entre 12 y 48 horas,

5 para proporcionar un compuesto de fórmula (II'):



10 un análogo del compuesto de fórmula (II) en la que R representa un átomo de hidrógeno, siendo posible que éste último se sustituya con un grupo protector, para proporcionar un compuesto de fórmula (II) tal como se definió en la reivindicación 3.

6. Procedimiento para la preparación de un reactivo de oxidación según la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de fórmula (VI):



en la que R y k son como se definieron en la reivindicación 1,

se condensa con un soporte de fórmula $\text{HX}-\text{C}_6\text{H}_5$, en la que X y C_6H_5 tienen el mismo significado que en la reivindicación 1,

20 para proporcionar un compuesto de fórmula (VII):



25 en la que R, X y C_6H_5 son como se definieron anteriormente,

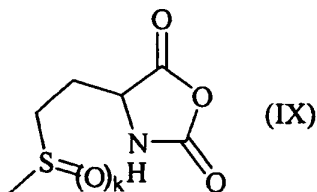
siendo dicho compuesto de fórmula (VII), después de la desprotección por escisión del grupo R, sometido a una serie de reacciones con un compuesto de fórmula (VI):



en la que R es como se definió anteriormente,

mediante un procedimiento convencional de acoplamiento de péptidos, en presencia de un agente de acoplamiento, repitiéndose la reacción n-1 veces, para proporcionar un compuesto de fórmula (I) como se definió en la reivindicación 1.

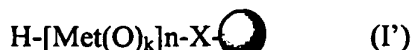
35 7. Procedimiento para la preparación de un reactivo de oxidación según la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de fórmula (IX):



en la que k es como se definió en la reivindicación 1, se polimeriza en presencia de un soporte de fórmula $\text{HX}-\text{C}_6\text{H}_5$,

en la que X y C_6H_5 tienen el mismo significado que en la reivindicación 1, en un disolvente tal como THF, durante un periodo de entre 12 y 48 horas,

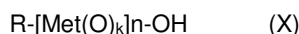
45 para proporcionar un compuesto de fórmula (I'):



en la que n, k, X y  tienen el mismo significado que anteriormente,

estando la parte del terminal N del compuesto (I') protegida con un grupo R, para proporcionar un compuesto de fórmula (I) como se definió en la reivindicación 1.

8. Procedimiento para preparar un reactivo de oxidación según la reivindicación 1, caracterizado porque el compuesto de fórmula (X):



en la que R, n y k son como se definieron en la reivindicación 1,

reacciona con un soporte de fórmula HX- , en la que X y  presentan el mismo significado que en la reivindicación 1,

para proporcionar el compuesto de fórmula (I) como se definió en la reivindicación 1.

9. Procedimiento de preparación según la reivindicación 8, caracterizado porque el compuesto de fórmula (X) se prepara mediante una serie de reacciones constituidas por la condensación del compuesto de fórmula (III'):



en la que R' representa un grupo alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) lineal o ramificado, alquenilo ($\text{C}_2\text{-C}_6$) lineal o ramificado, bencilo, carboxiamidometilo o éster de amida bencihidril glicol,

con un compuesto de fórmula (III):



en la que R es como se definió anteriormente,

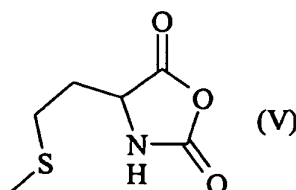
por medio de un procedimiento convencional de acoplamiento de péptidos, en presencia de un agente de acoplamiento, repitiéndose la reacción n-1 veces, para proporcionar, después de la protección de la función del terminal C, un compuesto de fórmula (XI):



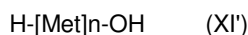
en la que R, R' y n son como se definieron anteriormente, sobreentendiéndose que R es diferente de un átomo de hidrógeno,

siendo dicho compuesto de fórmula (XI) sometido a una reacción de oxidación, seguida de una reacción de desprotección por escisión del grupo R', para proporcionar un compuesto de fórmula (X) como se definió en la reivindicación 1.

10. Procedimiento de preparación según la reivindicación 9, caracterizado porque el compuesto de fórmula (XI) se prepara a partir del N-carboxianhídrido de fórmula (V):



dejándose dicho compuesto de fórmula (V) al aire libre sin disolvente durante 2 días, para proporcionar, por medio de una reacción de polimerización espontánea iniciada por la humedad del aire, el compuesto de fórmula (XI'):



un análogo del compuesto de fórmula (XI) para el que R y R' representan cada uno un átomo de hidrógeno, siendo posible que este último sea sustituido por un grupo protector, para proporcionar un compuesto de fórmula (XI) como

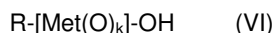
se definió en la reivindicación 9.

11. Procedimiento de preparación según la reivindicación 8, caracterizado porque el compuesto de fórmula (X) se prepara por policondensación del compuesto de fórmula (VI'):



en la que R' representa un grupo alquilo (C₁-C₆) lineal o ramificado, alqueno (C₂-C₆) lineal o ramificado, bencilo, carboxiamidometilo o éster de amida bencihidril glicol, y k es como se definió en la reivindicación 1,

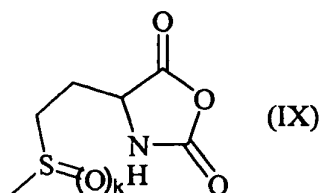
con un compuesto de fórmula (VI):



en la que R y k son como se definieron en la reivindicación 1,

por medio de un procedimiento convencional de acoplamiento de péptidos, en presencia de un agente de acoplamiento, repitiéndose la reacción n-1 veces, para proporcionar un compuesto de fórmula (X), después de la desprotección por escisión del grupo R'.

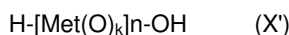
12. Procedimiento de preparación según la reivindicación 8, caracterizado porque el compuesto de fórmula (X) se prepara por polimerización del N-carboxianhídrido de fórmula (IX):



en la que k es como se definió anteriormente,

que se deja al aire libre sin disolvente durante 2 días, iniciándose la reacción de polimerización espontánea por la humedad en el aire,

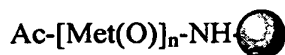
para proporcionar un compuesto de fórmula (X'):



en la que n y k son como se definieron anteriormente,

cuya parte del terminal N está protegida con un grupo R, para proporcionar un compuesto de fórmula (X) como se definió anteriormente.

13. Reactivo de oxidación de fórmula



en la que Ac representa acetilo, n es un número entero seleccionado de 1 a 9,

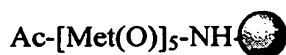


representa una resina de amida de Rink-poliestireno o

una resina de polietilenglicol-poliestireno o

una resina de poliamida-poli-etilenglicol-dimetilacrilamida.

14. Reactivo de oxidación según la reivindicación I de fórmula



en la que Ac representa acetilo y  representa una resina de polietilenglicol-poliestireno.

15. Reactivo de oxidación según la reivindicación I de fórmula



en la que Ac representa acetilo y  representa una resina de amida de Rink-poliestireno.

16. Reactivo de oxidación según la reivindicación I de fórmula



en la que Ac representa acetilo y  representa una resina de poliamida-polietilenglicol-dimetilacrilamida.