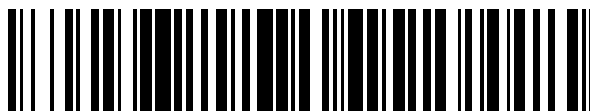


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 477 590**

51 Int. Cl.:

C07D 209/30

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.05.2009 E 11007876 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.04.2014 EP 2420489**

54 Título: **Grupos protectores de indolosulfonilo para la protección de grupos guanidino y amino**

30 Prioridad:

05.05.2008 EP 08008418
10.09.2008 US 95709

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.07.2014

73 Titular/es:

LONZA LTD (100.0%)
Lonzastrasse
3930 Visp, CH

72 Inventor/es:

GIRAUD, MATTHIEU;
ALBERICIO, FERNANDO;
ÁLVAREZ DOMINGO, MERCEDES y
ISIDRO LLOBET, ALBERT

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 477 590 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

Grupos protectores de indolosulfonilo para la protección de grupos guanidino y amino

5 La presente invención se refiere a compuestos que son útiles para la protección de compuestos orgánicos que comprenden al menos un resto guanidino y/o al menos un grupo amino. La invención también se refiere a un procedimiento para la preparación de estos compuestos y a su uso como reactivos protectores. La invención también se refiere al proceso para la reacción de protección y a los compuestos protectores del mismo.

10 La protección adecuada de un resto guanidino es aún un problema sin resolver en la química debido a la dificultad para eliminar los grupos protectores conocidos. Esto se aplica particularmente a la química de péptidos ya que el aminoácido natural arginina, que lleva un resto guanidino, es de gran importancia para la preparación de numerosas sustancias de fármacos. Durante la reacción de acoplamiento, es necesaria la protección de guanidino de la arginina para evitar la acilación potencialmente seguido de desguanidación, produciendo así la formación de ornitina y δ -lactama no deseada.

Dependiendo de la estrategia de acoplamiento, los grupos protectores más usados comúnmente para la arginina son *p*-toluenosulfonilo (Tos), 2,2,5,7,8-pentametilcroman-6-sulfonilo (Pmc) y 2,2,4,6,7-pentametilhidrobenzofuran-5-sulfonilo (Pbf). Sin embargo, estos grupos protectores son demasiado estables en ácidos, requiriendo así condiciones de eliminación más duras y un tiempo de eliminación mayor. Por lo tanto, los grupos protectores guanidino conocidos son propensos a formar subproductos en su eliminación. Es particularmente problemática su escisión en péptidos con múltiples residuos de arginina o en péptidos que contienen triptófano. Carpino y col. (Tetrahedron Letters 1993, Vol. 34, Nº 49, 7829-7832) comparan el grupo protector Pbf con el grupo protector Pmc cuando se usa para la protección de la cadena lateral de arginina.

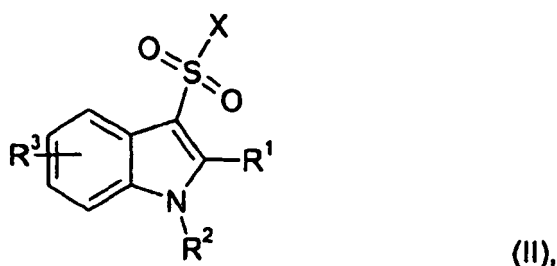
25 El documento WO 01/57045 desvela sulfamas tricíclicas obtenidas a través de intermedios de benzofurano, benzotiofeno e indolo.

30 Löwe y col. describen la síntesis de sulfonilureas heterocíclicas, que, por ejemplo comprenden un resto indol (J. Heterocyclic Chem., 1996, 33, 763-766).

Es un objetivo de la presente invención proporcionar un compuesto que proteja fácilmente el resto guanidino de un compuesto orgánico y que pueda eliminarse fácilmente.

35 El objetivo que se ha descrito anteriormente se consigue mediante los compuestos de la reivindicación 1, que pueden prepararse por el proceso de la reivindicación 5 y que se usa de acuerdo con la reivindicación 9 en el proceso de protección de la reivindicación 12 proporcionando los compuestos de la reivindicación 16.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula



40 en la que R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un resto de fórmula -(CH₂)_n-, en la que *n* es un número entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₈, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y X es cloro o bromo.

45 Aquí y como se indica a continuación, el término "alquilo C_{1-n}" se entenderá que se refiere a cualquier grupo alquilo lineal o ramificado que contiene de 1 a *n* átomos de carbono. Por ejemplo el término "alquilo C₁₋₆" comprende grupos tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, isopentilo (3-metilbutilo), neopentilo (2,2-dimetilpropilo), hexilo, isohexilo (4-metilpentilo) y similares.

Por consiguiente, el término "alcoxi C_{1-n}" se refiere a un grupo compuesto por un grupo alquilo C_{1-n} como se ha definido anteriormente y un átomo de oxígeno unido por un enlace covalente sencillo.

50 De la misma manera, el término "alquiltio C₁₋₆" se refiere a un grupo compuesto por un grupo alquilo C₁₋₆ como se ha definido anteriormente y un átomo de azufre unido por un enlace covalente sencillo.

Aquí y como se indica a continuación, el término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

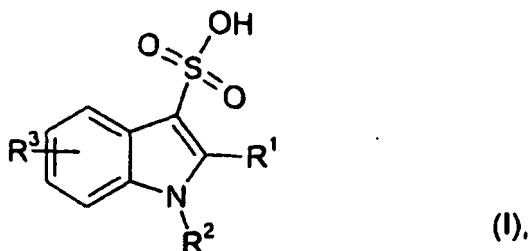
55

De forma favorable, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (II), en la que R^1 , R^2 , R^3 y X son como se han definido anteriormente con la excepción de cloruro de 1-metilindolo-3-sulfonilo.

En una realización preferida, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} ; R^3 es hidrógeno o halógeno; y X es cloro o bromo.

En una realización particular, tanto R^1 como R^2 son metilo; R^3 es hidrógeno; y X es cloro que es cloruro de 1,2-dimetil-indolo-3-sulfonilo. Para más comodidad, este compuesto se abreviará como MIS-Cl.

En un aspecto más de la presente invención, el compuesto de fórmula (II) se prepara mediante un procedimiento que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula



en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente, o una sal del mismo, con cloruro de oxalilo o bromuro de oxalilo.

En una realización preferida, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} , y R^3 es hidrógeno o halógeno.

En una realización más preferida, tanto R^1 como R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

En el procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula (II) puede usarse tanto la forma ácida como la forma salina del compuesto de fórmula (I) como reactivo. Puede emplearse cualquier forma salina del compuesto de fórmula (I). Sales adecuadas son, por ejemplo, la sal sódica, la sal potásica, la sal cálcica y la sal piridinio.

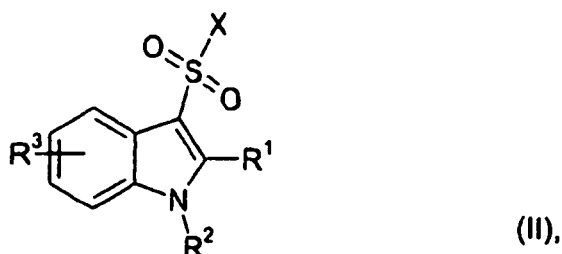
En una realización preferida, la reacción se realiza con la sal piridinio del compuesto de fórmula (I).

Preferiblemente, se emplea cloruro de oxalilo para la reacción.

Para el procedimiento de preparación, puede emplearse cualquier disolvente adecuado o mezclas de disolventes adecuados. Disolventes adecuados son disolventes que no reaccionan con los reactantes o con el producto y que disuelven los reactantes lo suficientemente. Ejemplos de disolventes adecuados son diclorometano, cloroformo, tetracloruro de carbono, tetrahidrofurano y 1,4-dioxano. Preferiblemente, se usa diclorometano como disolvente. La reacción también puede realizarse sin un disolvente.

De forma conveniente, la reacción se realiza en presencia de *N,N*-dimetilformamida.

En un aspecto adicional de la presente invención, se usa el compuesto de fórmula



en la que R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un resto de fórmula $-(CH_2)_n-$, en la que n es un número entero de 3 a 5; R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y X es cloro o bromo, para la protección de un compuesto orgánico que comprende al menos un resto guanidino y/o al menos un grupo amino.

En una realización preferida, el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que está opcionalmente protegido en la cadena lateral y/o protegido en el extremo libre; R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} , y R^3 es hidrógeno o halógeno.

Aquí y en lo sucesivo, la expresión "compuesto peptídico" se interpretará de una forma amplia como se define en lo sucesivo. Por lo tanto, la expresión "compuesto peptídico" se entenderá que se refiere a cualquier compuesto de una de las siguientes categorías (a) a (d):

- 5 (a) Un péptido, es decir un compuesto producido por la formación de un enlace amida entre un grupo carboxilo de un aminoácido y un grupo amino de otro. El enlace amida se forma normalmente entre C-1 de un aminoácido y N-2 de otro (enlace eupeptídico), pero también pretende incluirse un compuesto con residuos unidos por otros enlaces amida (enlaces isopeptídicos) por la expresión "compuesto peptídico". Los oligopéptidos que consisten en de dos a quince residuos aminoácídicos y polipéptidos que consisten en de dieciséis a aproximadamente
- 10 cincuenta residuos aminoácídicos son péptidos típicos de esta categoría. Los residuos aminoácídicos pueden ser cualquier aminoácido natural. Un ejemplo de péptido es H-Arg-Val-OH.
- (b) Un aminoácido, que es un aminoácido que se encuentra comúnmente en proteínas (α -aminoácido natural), un ejemplo es H-Ala-OH (aminoácido natural) u homoarginina.
- 15 (c) Ac-Phe-Arg-Gly-Ala-Val-OH (SEC ID N°: 5), H-Phe-Arg-Gly-Ala-Val-NH₂ (SEC ID N°: 6) y H-Arg-Gly-Ala-Gly-Gly-Lys(N^ε-tetradecanoil)-Ala-Gly-Gly-OH (SEC ID N°: 7).
- (d) H-Ala-OMe.

En otra realización preferida, el compuesto peptídico comprende al menos un resto guanidino y opcionalmente al menos un grupo amino, formando parte el resto guanidino de un residuo de arginina, homoarginina o norarginina. Más preferiblemente, dicho resto guanidino forma parte de un residuo de arginina u homoarginina. Incluso más preferiblemente, el compuesto peptídico es Z-Arg-OH.

20

El prefijo "homo" en el nombre de un aminoácido común (como homoarginina) significa que dicho aminoácido contiene un grupo metileno adicional en la cadena de carbono.

25

Por el contrario, el prefijo "nor" en el nombre de un aminoácido común (como norarginina) representa la eliminación de un grupo metileno en la cadena de carbono.

En otra realización preferida, el compuesto peptídico comprende al menos un grupo amino y opcionalmente al menos un resto guanidino, siendo dicho al menos un grupo amino el grupo amino N-terminal o parte de la cadena lateral de un residuo aminoácídico.

30

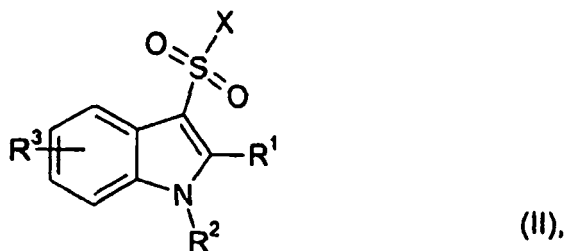
Más preferiblemente, el grupo amino a proteger es el grupo amino N-terminal de dicho compuesto peptídico. Más preferiblemente, el compuesto peptídico es H-Ala-OMe.

35

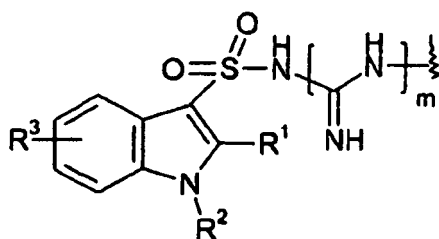
Además, más preferiblemente, el grupo amino a proteger forma parte de la cadena lateral de un residuo aminoácídico de dicho compuesto peptídico. Incluso más preferiblemente, dicho grupo amino forma parte de un residuo de lisina, homolisina o norlisina. Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es Z-Lys-OH.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un proceso para la protección de un compuesto orgánico, que comprende al menos un resto guanidino y/o un grupo amino, comprendiendo dicho proceso la reacción de dicho compuesto con el compuesto de fórmula

40



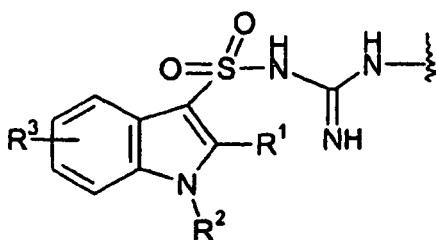
45 en la que R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un resto de fórmula -(CH₂)_n-, en la que n es un número entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y X es cloro o bromo, proporcionando así un compuesto, que comprende al menos un resto de la fórmula



(III),

en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente y m es 0 o 1.

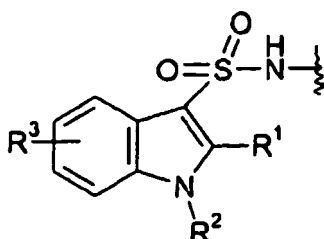
En una realización, m es 1, proporcionando así un compuesto, que comprende al menos un resto de la fórmula



(IV),

5 en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente.

En otra realización, m es 0, proporcionando así un compuesto, que comprende al menos un resto de la fórmula



(V),

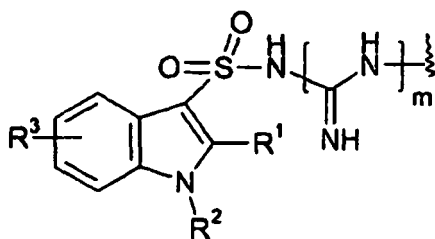
10 en la que R^1 , R^2 y R^3 son como se han definido anteriormente.

En una realización preferida, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} , R^3 es hidrógeno o halógeno. En una realización, m es 1 y en otra realización, m es 0.

15 En una realización más preferida, R^1 y R^2 son metilo, R^3 es hidrógeno y X es cloro. En una realización, m es 1; y en otra realización, m es 0.

En otra realización preferida, el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que está protegido opcionalmente en la cadena lateral y/o protegido en un extremo libre,

20 proporcionando así dicho compuesto peptídico, que comprende al menos un resto de la fórmula



(III),

en la que R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un resto de fórmula $-(CH_2)_n-$, en la que n es un número entero de 3 a 5; y R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0 o 1.

Preferiblemente, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno. Más preferiblemente, R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende al menos un resto guanidino que forma parte de un residuo de arginina, homoarginina o norarginina, formando parte preferiblemente de un residuo de arginina u homoarginina, proporcionando así dicho compuesto peptídico, que comprende al menos un resto de la fórmula (III), en la que R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un resto de fórmula $-(CH_2)_n-$, en la que n es un número entero de 3 a 5; y R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 1;

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico que va a reaccionar comprende únicamente un resto guanidino.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico que va a reaccionar es N- α -benciloxi-carbonil-L-arginina (Z-Arg-OH).

En una realización incluso más preferida, el compuesto peptídico que va a reaccionar es Z-Arg-OH; R^1 y R^2 del compuesto de fórmula (II) son metilo, R^3 del compuesto de fórmula (II) es hidrógeno y X del compuesto de fórmula (II) es cloro, proporcionando así N- α -benciloxicarbonil-N- ω -(1,2-dimetilindolo-3-sulfonil)-L-arginina. Para más comodidad, este compuesto se abrevia como Z-Arg(MIS)-OH a continuación.

En otra realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende al menos un grupo amino, siendo dicho al menos un grupo amino el grupo amino N-terminal o formando parte de la cadena lateral de un residuo aminoacídico, proporcionando así dicho compuesto peptídico, que comprende al menos un resto de la fórmula (III), en la que R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un resto de fórmula $-(CH_2)_n-$, en la que n es un número entero de 3 a 5; y R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0;

preferiblemente, en la que R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno; y más preferiblemente, en la que R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico que va a reaccionar comprende únicamente un grupo amino que es el grupo amino N-terminal o que forma parte de la cadena lateral de un residuo aminoacídico.

Incluso más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico que va a reaccionar es el grupo amino N-terminal.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico que va a reaccionar es L-alanina metil éster (H-Ala-OMe).

En una realización incluso más preferida, el compuesto peptídico es H-Ala-OMe; R^1 y R^2 del compuesto de fórmula (II) son metilo, R^3 del compuesto de fórmula (II) es hidrógeno y X del compuesto de fórmula (II) es cloro, proporcionando así N- α -(1,2-dimetilindolo-3-sulfonil)-L-alanina metil éster. Para más comodidad, este compuesto se abrevia como MIS-Ala-OMe a continuación.

Además, incluso más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico que va a reaccionar forma parte de la cadena lateral de un residuo aminoacídico. Más preferiblemente, dicho grupo amino forma parte de un residuo de lisina, homolisina o norlisina.

Como disolvente para el proceso de producción puede usarse cualquier disolvente líquido que pueda disolver los reactantes. Los disolventes aplicables incluyen hidrocarburos halogenados, tales como diclorometano, tetracloruro de carbono y dicloroetano; éteres, tales como éter dietílico, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano; ésteres carboxílicos y lactonas, tales como acetato de etilo, acetato de metilo y valerolactona; y disolventes orgánicos que contienen heteroátomos, tales como acetona, acetonitrilo, dimetilformamida y dimetilsulfóxido. Los disolventes pueden usarse en solitario o como mezclas. Opcionalmente, el disolvente, o mezcla de disolventes, puede contener agua si la solubilidad de los reactantes requiere la presencia de agua. Disolventes preferidos son diclorometano y acetona, en solitario o en presencia de agua.

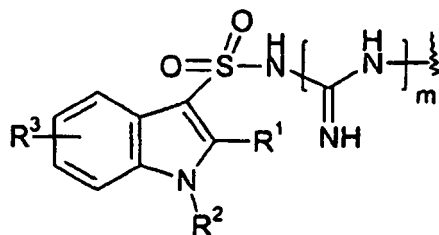
Opcionalmente, la mezcla de reacción puede contener bases inorgánicas u orgánicas. Ejemplos de bases inorgánicas son hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido de litio y carbonato sódico. Ejemplos de bases orgánicas son diisopropiletilamina, piridina y trietilamina. Bases preferidas son hidróxido sódico y diisopropiletilamina.

La cantidad del compuesto de fórmula (II) varía con el volumen del reactor y puede estar en una proporción molar de 0,9:1 a 4:1, preferiblemente de 1:1 a 3:1, con respecto al compuesto orgánico, que comprende al menos un resto guanidino y/o un grupo amino. El compuesto de fórmula (II) puede añadirse en porciones a la mezcla de reacción.

El proceso de protección puede realizarse a temperaturas bajas o ligeramente elevadas. Por ejemplo, un intervalo de temperatura adecuado es de -10 °C a 30 °C, preferiblemente de 0 °C a temperatura ambiente.

- 5 El tiempo de reacción depende de diferentes factores, como la temperatura o la proporcionar molar del compuesto de fórmula (II) y el compuesto orgánico, que comprende al menos un resto guanidino y/o un grupo amino. Por lo tanto, la reacción puede completarse en pocos minutos o varias horas.

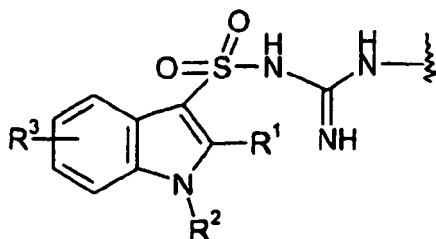
En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un compuesto orgánico que comprende al menos un resto de la fórmula



(III),

- 10 en la que R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un resto de fórmula -(CH₂)_n-, en la que n es un número entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y m es 0 o 1.

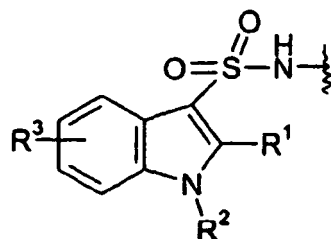
- 15 En una realización, m es 1, de manera que el compuesto orgánico comprenda al menos un resto de fórmula



(IV),

en la que R¹, R² y R³ son como se han definido anteriormente.

En otra realización, m es 0, de manera que el compuesto orgánico comprenda al menos un resto de fórmula



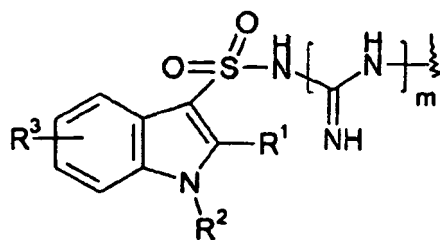
(V),

- 20 en la que R¹, R² y R³ son como se han definido anteriormente.

En una realización preferida, R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno. En una realización, m es 1 y en otra realización, m es 0.

- 25 En una realización más preferida, R¹ y R² son metilo, R³ es hidrógeno y X es cloro. En una realización, m es 1 y en otra realización, m es 0.

- 30 En otra realización preferida, el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que está opcionalmente protegido en la cadena lateral y/o protegido en el extremo libre y que comprende al menos un resto de la fórmula



(III),

en la que R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un resto de fórmula -(CH₂)_n-, en la que *n* es un número entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y *m* es 0 o 1, preferiblemente *m* es 1.

Preferiblemente, R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno. Más preferiblemente, R¹ y R² son metilo y R³ es hidrógeno.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende al menos un resto guanidino que forma parte de un residuo de arginina, homoarginina o norarginina, formando parte preferiblemente de un residuo de arginina u homoarginina, que comprende al menos un resto de fórmula (III), en la que R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un resto de fórmula -(CH₂)_n-, en la que *n* es un número entero de 3 a 5; y R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y *m* es 1;

preferiblemente, en la que R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno; y más preferiblemente, en la que R¹ y R² son metilo y R³ es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende únicamente un resto guanidino.

Incluso más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es Z-Arg(MIS)-OH.

En otra realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende al menos un grupo amino, siendo dicho al menos un grupo amino el grupo amino N-terminal o formando parte de la cadena lateral de un residuo aminoacídico, que comprende al menos un resto de fórmula (III), en la que R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un resto de fórmula -(CH₂)_n-, en la que *n* es un número entero de 3 a 5; y R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y *m* es 0; preferiblemente, en la que R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno; y más preferiblemente, en la que R¹ y R² son metilo y R³ es hidrógeno.

Además, más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende únicamente un grupo amino que es el grupo amino N-terminal o que forma parte de la cadena lateral de un residuo aminoacídico.

Incluso más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico es el grupo amino N-terminal.

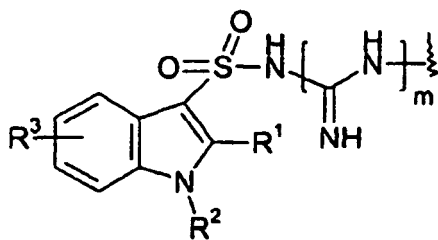
Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es MIS-Ala-OMe.

Además, incluso más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico forma parte de la cadena lateral de un residuo aminoacídico. Más preferiblemente, dicho grupo amino forma parte de un residuo de lisina, homolisina o norlisina.

Un aspecto adicional de la invención es la modificación y/o el acoplamiento en la siguiente o siguientes etapas del compuesto orgánico obtenido de acuerdo con la presente invención.

Como los compuestos orgánicos obtenidos de acuerdo con la presente invención son componentes básicos importantes, pueden emplearse para formar compuestos orgánicos que son útiles como, por ejemplo, sustancias de fármacos.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto orgánico que comprende al menos un resto de fórmula



(III),

en la que R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un resto de fórmula $(CH_2)_n$, en la que n es un número entero de 3 a 5; R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0 o 1, se modifica químicamente en una etapa posterior.

En una realización preferida, el compuesto orgánico que se va a modificar en una etapa posterior es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que está opcionalmente protegido en la cadena lateral y/o protegido en el extremo libre y que comprende al menos un resto de la fórmula (III), en la que R^1 , R^2 , R^3 y m son como se han definido anteriormente.

Preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende al menos un resto guanidino que forma parte de un residuo de arginina, homoarginina o norarginina, formando parte preferiblemente de un residuo de arginina u homoarginina, que comprende al menos un resto de la fórmula (III), en la que R^1 , R^2 , R^3 y m son como se han definido anteriormente;

preferiblemente, en la que R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno; y más preferiblemente, en la que R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende únicamente un resto guanidino.

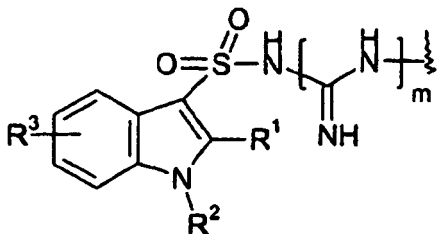
Incluso más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es Z-Arg(MIS)-OH.

La modificación comprende cualquier reacción orgánica que cumple con el grupo protector de la presente invención. Como ejemplo, Z-Arg(MIS)-OH puede modificarse mediante la desprotección del grupo Z, formando así H-Arg(MIS)-OH.

Opcionalmente, el compuesto modificado obtenido de este modo se modifica adicionalmente al menos una vez más. Como ejemplo, puede modificarse adicionalmente H-Arg(MIS)-OH como se ha obtenido por una primera modificación, mediante la protección de su extremo N, formando así por ejemplo Fmoc-Arg(MIS)-OH.

Las etapas de desprotección y protección pueden realizarse usando condiciones de reacción conocidas en la técnica de la síntesis peptídica.

Además, de acuerdo con la presente invención, el compuesto orgánico que comprende al menos un resto de la fórmula



(III),

en la que R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un resto de fórmula $-(CH_2)_n$, en la que n es un número entero de 3 a 5; R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0 o 1, se acopla a un compuesto orgánico Q en una etapa posterior.

Opcionalmente, dicha etapa de acoplamiento puede repetirse al menos una vez y/o puede realizarse al menos un acoplamiento adicional con un compuesto de acoplamiento adecuado. El compuesto obtenido de este modo puede modificarse químicamente, en caso de que dicho compuesto esté unido a resina, puede seguirse de la escisión de la resina.

En una realización preferida, el compuesto orgánico que se va a acoplar en una etapa posterior al compuesto orgánico Q es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que está opcionalmente protegido en la cadena lateral y/o protegido en el extremo libre y que comprende al menos un resto de la fórmula (III), en la que R^1 , R^2 , R^3 y m son como se han definido anteriormente.

Preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende al menos un resto guanidino que forma parte de un residuo de arginina, homoarginina o norarginina, formando parte preferiblemente de un residuo de arginina u homoarginina, que comprende al menos un resto de la fórmula (III), en la que R^1 , R^2 , R^3 y m son como se han definido anteriormente;

preferiblemente, en la que R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno; y

más preferiblemente, en la que R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende únicamente un resto guanidino.

Incluso más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es Fmoc-Arg(MIS)-OH o Z-Arg(MIS)-OH.

El compuesto orgánico Q es preferiblemente un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que está opcionalmente protegido en la cadena lateral y/o protegido en un extremo libre. Más preferiblemente, el compuesto orgánico Q es un compuesto peptídico que está opcionalmente protegido en la cadena lateral y que está opcionalmente unido a resina.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico es H-Val-resina o H-Trp(Boc)-Ala-Gly-resina, preferiblemente la resina se origina de la resina amida de Sieber (9-Fmoc-amino-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield).

En una realización incluso más preferida, el compuesto peptídico que se va a acoplar es Fmoc-Arg(MIS)-OH, y el compuesto peptídico al que se acopla dicho compuesto peptídico es H-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield, proporcionando así Fmoc-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield.

Preferiblemente, dicha reacción de acoplamiento se repite tres veces, proporcionando así Fmoc-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 8). Además, preferiblemente, Fmoc-Phe-OH se acopla después de la desprotección N-terminal de dicho péptido unido a resina, proporcionando así Fmoc-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 1). Más preferiblemente, el extremo N se desprotege y se acetila, proporcionando así Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 1). Más preferiblemente, dicho péptido unido a resina se escinde de la resina, proporcionando así Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH₂ (SEC ID N°: 2).

En una realización también incluso más preferida, el compuesto peptídico que se va a acoplar es Z-Arg(MIS)-OH, y el compuesto peptídico al que se acopla dicho compuesto es H-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield, proporcionando así Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 3). Preferiblemente, dicho péptido unido a resina se escinde de la resina, proporcionando así Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (SEC ID N°: 3).

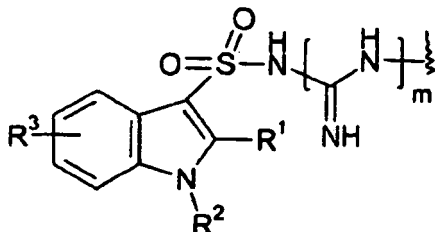
El procedimiento de acoplamiento al compuesto orgánico Q puede seguir de acuerdo con cualquier procedimiento de acoplamiento conocido por el experto en la técnica. En caso de que el compuesto orgánico que se va a acoplar sea un compuesto peptídico, el acoplamiento se realiza preferiblemente en fase sólida o líquida. Más preferiblemente, también se realizan etapas de acoplamiento opcionalmente anterior y opcionalmente posteriores en fase sólida y/o líquida.

La expresión "fase sólida" se entenderá que se refiere a la síntesis peptídica en fase sólida (SPPS). En la SPPS, se une un grupo aminoácido o peptídico, opcionalmente protegido, a una resina de soporte sólido. Después, se unen grupos aminoácidos o peptídicos sucesivos, opcionalmente protegidos, al péptido unido a soporte hasta que se forma el material peptídico de interés. Después, el péptido unido a soporte se escinde normalmente del soporte y se somete a tratamiento y/o purificación adicionales. En algunos casos, la síntesis de fase sólida produce un producto peptídico maduro; en otros casos, el péptido escindido del soporte, es decir un "fragmento de intermedio peptídico", se usa en la preparación de un producto peptídico maduro mayor.

La expresión "fase en solución" se entenderá que se refiere a una síntesis peptídica de fase en solución. En la síntesis peptídica de fase en solución, dos fragmentos de intermedios peptídicos, opcionalmente protegidos, o un fragmento de intermedio peptídico y un aminoácido reactivo, ambos opcionalmente protegidos, se acoplan en un disolvente apropiado, normalmente en presencia de reactivos adicionales que promueven la eficacia y calidad de la reacción de acoplamiento. Los fragmentos de intermedios peptídicos se disponen de forma reactiva de manera que el extremo N de un fragmento se acople al extremo C del otro fragmento, o viceversa. Además, se retienen comúnmente grupos protectores de cadena lateral, que están presentes durante la síntesis en fase sólida, en los fragmentos durante el acoplamiento en fase de solución para asegurar la reactividad específica de los extremos

terminales de los fragmentos. Estos grupos protectores de cadena lateral no se eliminan normalmente hasta que se haya formado un compuesto peptídico maduro.

Un aspecto adicional de la invención es la escisión de un compuesto orgánico, que comprende al menos un resto de la fórmula



(III),

en la que R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un resto de fórmula $-(CH_2)_n-$, en la que n es un número entero de 3 a 5; R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0 o 1, teniendo lugar dicha escisión en presencia de al menos un eliminador.

En una realización preferida, el procedimiento de escisión se realiza mediante el uso de un ácido, preferiblemente mediante el uso de ácido trifluoroacético (TFA). El ácido se emplea puro o como una mezcla con un disolvente inerte.

Un ejemplo de un disolvente inerte adecuado es diclorometano (DCM). Preferiblemente, la proporción molar de ácido y disolvente está en el intervalo de 1:0 y 1:2, preferiblemente de 1:0 y 1:1.

Después de la escisión, el compuesto de sulfonilo formado puede atraparse por cualquier eliminador adecuado. Ejemplos de eliminadores son triisopropilsilano (TIS), agua, sulfuro de dimetilo, alcoxi C_{1-4} bencenos, tales como 1,3,5-trimetoxibenceno (TMB) y alcoxi C_{1-4} fenoles, tales como 3,4-dimetoxifenol y 3,5-dimetoxifenol. El eliminador puede usarse en solitario o como una mezcla, tal como agua/TIS.

Preferiblemente, se usan alcoxi C_{1-4} bencenos y alcoxi C_{1-4} fenoles como eliminadores ya que son nucleófilos menos polares en comparación con, por ejemplo, el agua. Como consecuencia, los aductos obtenidos de este modo son más fáciles de separar del compuesto diana en el siguiente procedimiento de tratamiento.

En una realización preferida, dicho compuesto orgánico que se va a escindir es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que está opcionalmente protegido en la cadena lateral y/o protegido en el extremo libre. Preferiblemente, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno, mucho más preferiblemente, R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

En una realización más preferida, dicho compuesto peptídico que se va a escindir es Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 1), proporcionando así Ac-Phe-Arg-Arg-Arg-Arg-Val-NH₂ (SEC ID N°: 2). Preferiblemente, se emplea TFA/DCM/TIS/agua como solución de escisión, mucho más preferiblemente en una proporción molar de 50:45:2,5:2,5. Además, preferiblemente, se emplea TFA/DCM/3,4-dimetoxifenol como solución de escisión, mucho más preferiblemente en una proporción molar de 50:40:10. Además, preferiblemente, se emplea TFA/DCM/3,5-dimetoxifenol como solución de escisión, mucho más preferiblemente en una proporción molar de 50:40:10. Además, preferiblemente, se emplea TFA/DCM/TMB como solución de escisión, mucho más preferiblemente en una proporción molar de 50:40:10.

Además, en una realización más preferida, dicho compuesto peptídico que se va a escindir es Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 3), proporcionando así Z-Arg-Trp-Ala-Gly-NH₂ (SEC ID N°: 4). Preferiblemente, se emplea TFA/DCM/TMB como solución de escisión, mucho más preferiblemente en una proporción molar de 50:40:10.

Además, en una realización más preferida, dicho compuesto peptídico que se va a escindir es MIS-Ala-OMe, proporcionando así H-Ala-OMe. Preferiblemente, se emplea TFA/sulfuro de dimetilo como solución de escisión, mucho más preferiblemente en una proporción molar de 90:10.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente esta invención, pero no pretenden ser limitantes de ningún modo. Los Ejemplos 1 a 8 se refieren a procedimientos de preparación y los Ejemplos 9 a 20 se refieren a ensayos de eliminación.

Si no se indica otra cosa, se usó el enantiómero L del residuo aminoácido y todos los reactivos se obtuvieron en el mercado.

Abreviaturas:

- 5 Boc = terc-butoxicarbonilo
 DIC = diisopropilcarbodiimida
 DIPEA = diisopropiletilamina
 EMEN = espectrometría de masas por electronebulización
 10 Fmoc = fluoren-9-ilmetoxicarbonilo
 HOAt = N-hidroxi-7-azabenzotriazol
 HOBt = N-hidroxibenzotriazol
 EMAR (IQ) = espectrometría de masas de alto rendimiento (ionización química)
 MALDI-TOF = desorción-ionización por láser asistida por matriz-tiempo de vuelo
 15 MIS = 1,2-dimetilindol-3-sulfonilo
 PyBOP = hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tripirrolidinofosfonio
 TFA = ácido trifluoroacético
 TIS = triisopropilsilano
 TMB = 1,3,5-trimetoxibenceno
 20 Z-OSu = N-(benciloxicarboniloxi)succinimida

Ejemplo 1: Preparación de 1,2-dimetilindolo-3-sulfonato de piridinio

25 Se disolvieron 1,2-dimetilindol (19,7 g, 135,9 mmol) y un complejo de trióxido de azufre-piridina (20,4 g, 128,3 mmol) en piridina (100 ml) en una atmósfera de argón. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 40 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. Después de la adición de agua (400 ml), la solución resultante se lavó cuatro veces con éter dietílico (250 ml cada vez). La fase acuosa se evaporó a sequedad y se secó en un desecador de vacío para producir 1,2-dimetilindolo-3-sulfonato de piridinio en forma de un aceite de color rojo (37,6 g, rendimiento del 96 %).

30 ^1H RMN (400 MHz, D_2O): δ = 8,44 (d, 2H, J = 5,8 Hz), 8,31 (m, 1H), 7,75 (m, 2H), 7,67 (d, 1H, J = 7,7 Hz), 7,14 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 7,05 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 2,41 (s, 3H). ^{13}C RMN (100 MHz, D_2O): δ = 147,0, 140,9, 139,2, 135,6, 127,3, 124,1, 122,0, 121,0, 119,2, 112,8, 109,9, 29,2, 10,4.
 EMAR (IQ): m/z calc. para $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}_3\text{S}$ [M - H] $^+$ 224,0386, observado 224,0388.

Ejemplo 2: Preparación de cloruro de 1,2-dimetilindolo-3-sulfonilo (MIS-Cl)

35 Se suspendió 1,2-dimetilindolo-3-sulfonato de piridinio del Ejemplo 1 (16,4 g, 53,7 mmol) en diclorometano seco (120 ml) en una atmósfera de nitrógeno. La solución se enfrió en un baño de hielo y se añadió lentamente cloruro de oxalilo (14 ml, 161 mmol). Después, se añadió muy lentamente N,N-dimetilformamida (0,5 ml) en agitación. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos más en el baño de hielo y después a temperatura ambiente. Después de 6 horas, la solución se enfrió en un baño de hielo. Se añadió más cantidad de cloruro de oxalilo (4 ml, 46 mmol) y N,N-dimetilformamida (0,4 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas más. Después de la adición de cloruro de oxalilo (2 ml, 23 mmol) y la agitación adicional durante 4 horas, la reacción se completó (medido por HPLC; medición anterior, el tratamiento de una pequeña alícuota con metanol durante 20 minutos).

40 La mezcla de reacción se evaporó a sequedad a temperatura ambiente. Se añadió N,N-dimetil-formamida (200 ml) seguido de agua (100 ml). La mezcla se agitó durante 5 minutos para retirar el cloruro de oxalilo. Después, las fases se separaron y la fase orgánica se lavó tres veces con agua (100 ml cada vez). La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio anhidro y se evaporó a sequedad, proporcionando cloruro de 1,2-dimetilindolo-3-sulfonilo (MIS-Cl) en forma de un sólido de color púrpura (10,2 g, rendimiento del 78 %).

45 ^1H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 7,82 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 7,36 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,08 (m, 2H), 7,00 (m, 2H), 3,63 (s, 3H), 2,56 (s, 3H).

50 ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO): δ = 137,2, 135,9, 125,5, 121,4, 120,8, 120,1, 109,7, 30,0, 11,3.

EMAR (IQ): m/z calc. para $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{S}$ [M - Cl] $^+$ 208,0426, observado 208,0427.

Ejemplo 3: Preparación de Z-Arg(MIS)-OH

60 Se disolvió Z-Arg-OH (2 g, 6,5 mmol) en acetona (65 ml) y una solución acuosa 3 N de hidróxido sódico (18 ml, 54 mmol). La reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió MIS-Cl del Ejemplo 2 (1,59 g, 6,5 mmol), disuelto en acetona (50 ml) durante 10 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 0 °C. Después, se añadió más cantidad de MIS-Cl (0,95 g, 3,9 mmol) en acetona (20 ml) seguido de agitación durante 90 minutos a 0 °C. Finalmente, se añadió una última porción de MIS-Cl (0,95 g, 3,9 mmol) en acetona (15 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos más a 0 °C y 3 horas más a temperatura ambiente, hasta que no se detectó MIS-Cl por TLC (1:1 de hexano:acetato de etilo). El pH de la reacción se neutralizó con ácido cítrico acuoso al 10 %. Después

de la evaporación de la acetona al vacío, se añadió agua (100 ml) y el pH se acidificó a pH 3 con ácido cítrico acuoso al 10 %. Después, la solución se extrajo tres veces con acetato de etilo (100 ml cada vez). Las fases orgánicas se pusieron juntas, se lavaron tres veces con agua (75 ml cada vez), se secaron sobre sulfato de magnesio y se evaporaron finalmente a sequedad. El producto en bruto obtenido se purificó dos veces por cromatografía en columna (diclorometano, metanol, ácido acético). Las fracciones puras se combinaron y el disolvente se retiró al vacío, produciendo un aceite. Para la precipitación, se añadió la cantidad mínima de una mezcla de acetato de etilo, diclorometano y metanol seguido de la adición de hexano hasta que no se observó precipitación adicional. El disolvente se decantó y el sólido se lavó cuatro veces con una mezcla de diclorometano y hexano y finalmente se secó sobre sulfato de magnesio, produciendo 18 % (0,61 g) de Z-Arg(MIS)-OH.

¹H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 7,85 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,52 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,43 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 7,30 (m, 5H), 7,10 (m, 2H), 5,01 (s, 2H), 3,87 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,0 (m, 2H), 2,60 (s, 3H), 1,64 (m, 1H), 1,49 (m, 1H), 1,41 (m, 2H).

¹³C RMN (100 MHz, DMSO): δ = 174,4, 157,0, 156,8, 139,4, 137,7, 135,9, 129,0, 128,5, 128,4, 125,2, 122,1, 121,1, 120,1, 110,4, 66,1, 54,3, 40,0, 30,2, 28,9, 26,4, 11,4.

EMAR (IQ): *m/z* calc. para C₂₄H₃₀N₅O₆S [M + H]⁺ 516,1911, observado 516,1911.

Ejemplo 4: Preparación de Fmoc-Arg(MIS)-OH

1. Preparación de H-Arg(MIS)-OH

Una mezcla de Z-Arg(MIS)-OH que se ha obtenido a partir del Ejemplo 3 (486 mg, 0,94 mmol) y Pd al 10 %/C (110 mg) en metanol (60 ml) se hidrogenó durante una noche a presión atmosférica. Puesto que la reacción estaba aún incompleta (medido por TLC; diclorometano:metanol:ácido acético, 90:9:1), se añadió Pd al 10 %/C (100 mg) y la reacción se hidrogenó durante 24 horas más hasta que se completó (medido por TLC).

La mezcla de reacción se filtró sobre celite y se evaporó a sequedad, produciendo el 98 % (352 mg) de H-Arg(MIS)-OH.

¹H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 7,83 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,47 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,42 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,11 (m, 2H), 3,65 (s, 3H), 3,17 (m, 1H), 3,00 (m, 2H), 2,60 (s, 3H), 1,65 (m, 1H), 1,54 (m, 1H), 1,42 (m, 2H).

2. Preparación de Fmoc-Am(MIS)-OH

Se disolvió Fmoc-Cl (84 mg, 0,32 mmol) en 1,4-dioxano (0,5 ml). Se añadió azida sódica (25 mg, 0,39 mmol) en agua (0,4 ml) y la emulsión resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Después, la emulsión se añadió lentamente a una solución de H-Arg(MIS)-OH que se ha obtenido en la etapa anterior (136 mg, 0,36 mmol) en una mezcla 1:1 de agua y dioxano a pH 9, que se controló mediante la adición de carbonato sódico acuoso al 10 %. La mezcla de reacción se agitó manteniendo al mismo tiempo el pH a 9. Una vez que el pH se estabilizó, la mezcla se agitó durante una noche. Después, se añadió agua (30 ml) y la mezcla se lavó tres veces con terc-butil metil éter (20 ml cada vez). La fase acuosa se acidificó con HCl 1 N a un pH de 2 a 3 y después se extrajo rápidamente tres veces con acetato de etilo (30 ml). Las fases orgánicas se combinaron y se secaron sobre sulfato de magnesio. Después de la evaporación a sequedad, se obtuvo un aceite (115 mg), que se disolvió en una cantidad mínima de acetona. Después, se añadió carbonato sódico acuoso (20 ml) a pH 9 y la solución acuosa se lavó tres veces con terc-butil metil éter (30 ml cada vez). La solución acuosa obtenida de este modo se acidificó con HCl 1 N a un pH de 2 a 3, después se extrajo tres veces con acetato de etilo (20 ml cada vez), se secó sobre sulfato de magnesio y finalmente se evaporó a sequedad, produciendo el 34,3 % (67,4 mg) de Fmoc-Arg(MIS)-OH.

¹H RMN (400 MHz, DMSO): δ = 7,86 (m, 3H), 7,70 (d, 2H, J = 7,4 Hz), 7,59 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,42 (d, 1H, J = 8,1 Hz), 7,39 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 7,10 (m, 2H), 4,27 (m, 2H), 4,20 (m, 1H), 3,86 (m, 1H), 3,66 (s, 3H), 3,01 (m, 2H), 2,61 (s, 3H), 1,65 (m, 1H), 1,52 (m, 1H), 1,38 (m, 2H).

¹³C RMN (100 MHz, DMSO): δ = 174,4, 157,0, 156,8, 144,5, 141,4, 139,4, 135,9, 128,3, 127,8, 126,0, 125,2, 122,1, 121,1, 120,8, 120,1, 110,4, 66,3, 55,6, 47,3, 40,0, 30,2, 28,8, 26,5, 11,4.

EMAR (IQ): *m/z* calc. para C₃₁H₃₄N₅O₆S [M + H]⁺ 604,2224, observado 604,2222.

Ejemplo 5: Preparación de Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH₂ (SEC ID N°: 2)

Se puso resina amida de Sieber (25 mg, 0,42 mmol/g, 9-Fmoc-aminoxanten-3-iloxi-resina de Merrifield) en una jeringa de 2 ml de polipropileno equipada con un disco de filtro de polietileno. La resina se hinchó con diclorometano. Posteriormente, se realizaron lavados con diclorometano y N,N-dimetilformamida y el grupo Fmoc se retiró por tratamiento con una mezcla 2:8 de piperidina y N,N-dimetilformamida (una vez durante 1 minuto, y dos veces durante 10 minutos). Se acopló Fmoc-Val-OH (14,3 mg, 42,1 μ mol) usando HOBt (5,7 mg, 42,1 μ mol) y DIC (6,7 μ l, 42,1 μ mol) en N,N-dimetilformamida durante 1,5 horas. El grupo Fmoc se retiró de la forma habitual, y el Fmoc-Arg(MIS)-OH que se ha obtenido a partir del Ejemplo 4 (15,8 mg, 26,3 μ mol) se acopló usando PyBOP (13,7 mg, 26,3 μ mol), HOAt (3,6 mg, 26,3 μ mol) y DIPEA (13,4 μ l, 78,9 μ mol) en N,N-dimetilformamida durante 90 minutos. La resina se acetiló por tratamiento con anhídrido acético (50 equiv.) y DIPEA (50 equiv.) en DMF durante 25 min para

proteger las aminas sin reaccionar, el grupo Fmoc se retiró y el mismo procedimiento se repitió tres veces más incluyendo la acetilación de la resina antes de la eliminación de Fmoc. Después de la última eliminación de Fmoc, se acopló Fmoc-Phe-OH (13,6 mg, 35 μ mol) usando PyBOP (18,3 mg, 35 μ mol), HOAt (4,8 mg, 35 μ mol) y DIPEA (17,9 μ l, 105,2 μ mol) en *N,N*-dimetilformamida durante 90 min. El grupo Fmoc se retiró, y el grupo amino libre resultante se acetiló de la misma manera que se ha descrito anteriormente. El péptido unido a resina protegido Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield obtenido de este modo se lavó con *N,N*-dimetilformamida, diclorometano y éter dietílico, se secó al vacío y después se dividió en cinco alícuotas.

Se usó una alícuota para la preparación del compuesto diana de este ejemplo, y las demás alícuotas se usaron como material de partida para los ensayos de eliminación de, por ejemplo, el Ejemplo 9.

Por lo tanto, una alícuota se hinchó con diclorometano y se trató con 1,5 ml de una mezcla de TFA, diclorometano, TIS y agua (2:93:2,5:2,5) durante 20 minutos para escindir el péptido protegido de la resina. La resina se filtró y la solución recogida se diluyó con diclorometano y se neutralizó añadiendo DIPEA (80 μ l, 1,2 equiv. por equiv. de TFA). El disolvente se retiró al vacío. Después de la adición de agua y acetonitrilo, la solución se liofilizó obteniendo Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH₂ (SEC ID N°: 2).

El producto se caracterizó por CL-EM y EMAR (IQ): *m/z* calc. para C₈₀H₁₀₇N₂₃O₁₅S₄ [M + Na]⁺ 1780,7092, observado 1780,7152.

Ejemplo 6: Preparación de Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (SEC ID N°: 4)

Se puso una resina amida de Sieber (70 mg, 0,40 mmol/g) en una jeringa de 2 ml de polipropileno equipada con un disco de filtro de polietileno. La resina se hinchó con diclorometano, se realizaron lavados con diclorometano y *N,N*-dimetilformamida y el grupo Fmoc se retiró. Fmoc-Gly-OH (33,3 mg, 112 μ mol), Fmoc-Ala-OH (34,9 mg, 112 μ mol) y Fmoc-Trp(Boc)-OH (59,0 mg, 112 μ mol) se acoplaron secuencialmente usando PyBOP (58,3 mg, 112 μ mol) HOAt (15,2 mg, 112 μ mol) y DIPEA (57,4 μ l, 336 μ mol) en *N,N*-dimetilformamida durante 1,5 horas. La resina se dividió en dos partes iguales. Se usó una parte para la preparación del compuesto diana de este ejemplo, y la otra parte para la preparación de Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (véase el Ejemplo 8.2).

Por lo tanto, se acopló Z-Arg(MIS)-OH (28,9 mg, 56 μ mol) con una parte de resina usando PyBOP (29,2 mg, 56 μ mol), HOAt (7,6 mg, 56 μ mol) y DIPEA (28,7 μ l, 168 μ mol) en *N,N*-dimetilformamida durante 1,5 horas. El péptido unido a resina protegido Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield obtenido de este modo se lavó con *N,N*-dimetilformamida, diclorometano y éter dietílico, se secó al vacío y después se dividió en alícuotas de 4 mg. Se usó un alícuota para la preparación del compuesto diana de este ejemplo, y las demás alícuotas se usaron como material de partida para los ensayos de eliminación de, por ejemplo, el Ejemplo 19.

Por lo tanto, una alícuota se hinchó con diclorometano y se trató con 1,5 ml de una mezcla de TFA, diclorometano, TIS y agua (2:93:2,5:2,5) durante 20 minutos para escindir el péptido protegido de la resina. La resina se filtró y la solución recogida se diluyó con diclorometano y se neutralizó añadiendo DIPEA (80 μ l, 1,2 equiv. por equiv. de TFA). El disolvente se retiró al vacío. Después de la adición de agua y acetonitrilo, la solución se liofilizó obteniendo Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ con una pureza del 95 % (por HPLC). El producto obtenido se caracterizó por CL-EM.

Ejemplo 7: Preparación de MIS-Ala-OMe

Se disolvió H-Ala-OMe (95 mg, 0,68 mmol, 1 equiv.) en diclorometano seco y se añadió DIPEA (3 equiv.). Se añadió una solución de MIS-Cl (200 mg, 1,2 equiv.), que se ha obtenido a partir del Ejemplo 2, en diclorometano seco, y la mezcla de reacción se agitó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. El tratamiento del modo habitual produjo 85,4 mg (40 %) de MIS-Ala-OMe.

Ejemplo 8: Preparación de los compuestos de comparación Pbf-protegidos

8.1 Preparación de Ac-Phe-Ara(Pbf)-ArQ(Pbf)-ArQ(Pbf)-Arg(Pbf)-Val-NH₂ (SEC ID N°: 2)

Se empleó el mismo procedimiento que para la preparación de Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH₂ (véase el Ejemplo 5) excepto para reemplazar Fmoc-Arg(MIS)-OH por Fmoc-Arg(Pbf)-OH (17,1 mg, 26,3 μ mol). El producto obtenido se caracterizó por CL-EM y EMAR (IQ): *m/z* calc. para C₉₂H₁₃₆N₁₉O₁₉S₄ [M + H]⁺ 1938,9137, observado 1938,9202.

8.2 Preparación de Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (SEC ID N°: 4)

Se acopló Fmoc-Arg(Pbf)-OH (36,3 mg, 56 μ mol) con la resina parte del Ejemplo 6 usando PyBOP (29,2 mg, 56 μ mol), HOAt (7,6 mg, 56 μ mol) y DIPEA (28,7 μ l, 168 μ mol) en *N,N*-dimetilformamida durante 1,5 horas. El grupo Fmoc se retiró y la amina libre se protegió con el grupo Z por tratamiento con Z-OSu (14,0 mg, 56 μ mol) y DIPEA (35,9 μ l, 210 μ mol). El péptido unido a resina protegido Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield obtenido de este modo se lavó con *N,N*-dimetilformamida, diclorometano y éter dietílico, se secó al vacío y después se dividió en alícuotas de 4 mg.

Se usó una alícuota para la preparación del compuesto diana de este ejemplo y las demás alícuotas se usaron como material de partida para el ensayo de eliminación de, por ejemplo, el Ejemplo 20.

Por lo tanto, un alícuota se escindió de la misma manera que se ha descrito en el Ejemplo 5. Se obtuvo Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ con una pureza del 96 % (por HPLC). El producto se caracterizó por CL-EM.

8.3 Preparación de Pbf-Ala-OMe

La preparación se realizó de forma análoga al Ejemplo 7, excepto para Pbf-Cl (1,2 equiv.) en lugar de MIS-Cl. Rendimiento: 209 mg (82 %) de Pbf-Ala-OMe.

Ejemplos 9 a 12: Ensayos de eliminación de MIS frente a péptidos unidos a resina Pbf-protectados

Procedimiento general

El péptido unido a resina protegido (3 mg) se trató con una solución de escisión (50 µl). Después del tiempo de escisión, la solución se vertió en agua (4 ml). Después, se evaporaron TFA y diclorometano. La solución acuosa resultante se lavó seis veces con diclorometano (1 ml cada vez) y se liofilizó. El sólido resultante se analizó por HPLC (λ = 220 nm) y EMEN o MALDI-TOF.

Tabla 1: Ejemplos 9 a 12 con solución de escisión TFA/DCM/TIS/agua (50:45:2,5:2,5) (agua y TIS como eliminadores)

Ejemplo	Péptido unido a resina protegido	Tiempo de escisión	Ac-Phe-Arg-Arg-Arg-Arg-Val-NH ₂ (SEC ID N°: 2)
9	a	30 min	100 %
10	a	60 min	100 %
11	b	30 min	4 %
12	b	60 min	38 %

a = Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 1) que se ha obtenido a partir del Ejemplo 5.
b = Ac-Phe-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 1) que se ha obtenido a partir del Ejemplo 8.1 (ejemplo de comparación).
 DCM = Diclorometano.

Ejemplos 13 a 15: Ensayos de eliminación de péptidos unidos a resina MIS-protectados con diferentes eliminadores

Se siguió el procedimiento general como se ha descrito en los Ejemplos 9 a 12. Como el péptido unido a resina protegido, se usó Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 1), que se ha obtenido a partir del Ejemplo 5. El tiempo de escisión fue de 60 minutos. Se usó una mezcla de TFA, diclorometano y eliminador (50:40:10) como solución de escisión.

Los eliminadores ensayados fueron 3,4-dimetoxifenol (Ejemplo 13), 1,3,5-trimetoxi-benceno (TMB) (Ejemplo 14) y 3,5-dimetoxifenol (Ejemplo 15).

Como resultado, la cantidad de MIS-OH se redujo más de 10 veces en comparación con el Ejemplo 9, en el que se usaron agua (2,5 %) y TIS (2,5 %) como eliminadores. En el caso de Tmb, se observó incluso una reducción de más de 40 veces.

Ejemplos 16 y 17: Ensayos de eliminación de MIS frente a péptidos que contienen Trp unidos a resina Pbf-protectados

Se siguió el procedimiento general que se ha descrito en los Ejemplos 9 a 12. Los productos en bruto resultante se caracterizaron por CL-EM y su pureza se analizó por HPLC (λ = 220 nm).

La pureza del producto en bruto resultante era mayor para el material de partida MIS-protectado en comparación con el material de partida Pbf-protectado. Para ambos péptidos protegidos c y d, no se observó en el producto formado ni alquilación Trp no deseada ni sulfonilación.

Tabla 2: Ejemplos 16 y 17; con solución de escisión TFA/DCM/TMB (50:40:10) (TMB como eliminador)

Ejemplo	Péptido unido a resina protegido	Tiempo de escisión	Z-Arg-Trp-Ala-Gly-NH ₂ (SEC ID N°: 4)
16	c	60 min	83,4 %*
17	d	60 min	63,4 %*

c = Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 3) como se ha obtenido a partir del Ejemplo 6.
d = Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield (SEC ID N°: 3) como se ha obtenido a partir del Ejemplo 8.2 (ejemplo de comparación).
 DCM = Diclorometano - TMB = 1,3,5-trimetoxibenceno - *Z-Arg(MIS)-Trp-Ala-Gly-NH₂ (SEC ID N°: 4) no se detectó en el producto en bruto resultante (por CL-EM) - *20,4 % de Z-Arg(Pbf)-Trp-Ala-Gly-NH₂ (SEC ID N°: 4) se detectó en el producto en bruto resultante (por HPLC)

Ejemplos 18 a 20: Ensayos de eliminación de MIS frente a Pbf como grupos protectores N^o-amino

Los aminoácidos protegidos se trataron con la solución de escisión a temperatura ambiente y le siguió la desprotección por TLC.

La eliminación de MIS era ligeramente más rápida, presentando un ensayo de Kaiser positivo (indicando la presencia de aminas libres) después de 5 min, mientras que para el caso de Pbf, el ensayo de Kaiser positivo fue en el siguiente control (10 min).

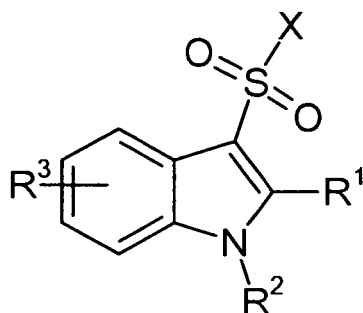
Tabla 3: Ejemplos 18 a 20; con solución de escisión TFA/sulfuro de dimetilo (90:10) (sulfuro de dimetilo como eliminador)

Ejemplo	Péptido protegido	Tiempo de escisión	H-Ala-OMe+
18	e	5 min	detectado
19	f	5 min	no detectado
20	f	10 min	detectado

e = MIS-Ala-OMe como se ha obtenido a partir del Ejemplo 7.
f = Pbf-Ala-OMe como se ha obtenido a partir del Ejemplo 8.3 (ejemplo de comparación).
 * La presencia o ausencia de H-Ala-OMe se detectó mediante el ensayo de Kaiser.

REIVINDICACIONES

1. Uso del compuesto de fórmula (II),



(II),

5 en la que R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un resto de fórmula -(CH₂)_n-, en la que n es un número entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y X es cloro o bromo; como reactivo protector para la protección de un compuesto orgánico que comprende al menos un resto guanidino y/o al menos un grupo amino;

10 el compuesto orgánico es un compuesto de una de las siguientes categorías (a) a (d):

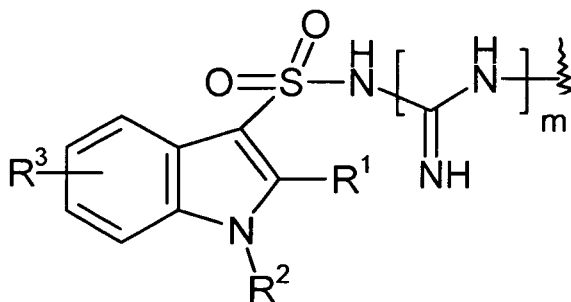
- (a) un péptido, en el que los residuos aminoacídicos son residuos aminoacídicos naturales;
- (b) un alfa-aminoácido natural u homoarginina;
- (c) un péptido seleccionado entre el grupo que consiste en Ac-Phe-Arg-Gly-Ala-Val-OH (SEC ID N°: 5), H-Phe-Arg-Gly-Ala-Val-NH₂ (SEC ID N°: 6) y H-Arg-Gly-Ala-Gly-Gly-Lys(N^ε-tetradecanoil)-Ala-Gly-Gly-OH (SEC ID N°: 7);
- (d) H-Ala-OMe.

20 2. El uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto orgánico es un compuesto orgánico unido a resina; R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄, y R³ es hidrógeno o halógeno.

3. El uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto orgánico es una cadena lateral protegida y/o protegida en el extremo libre; R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄, y R³ es hidrógeno o halógeno.

25 4. El uso de la reivindicación 1, en el que el resto guanidino es parte de un residuo de arginina u homoarginina.

5. Un proceso para la protección de un compuesto orgánico, siendo el compuesto orgánico como se ha definido en la reivindicación 1, que comprende la etapa de hacer reaccionar dicho compuesto orgánico con el compuesto de fórmula (II), siendo el compuesto de fórmula (II) como se ha definido en la reivindicación 1, proporcionando de esta manera un compuesto, que comprende al menos un resto de la fórmula



(III),

en la que R¹, R² y R³ se definen como en la reivindicación 1, y m es 0 o 1.

35 6. El proceso de la reivindicación 5, en el que R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno.

7. El proceso de las reivindicaciones 5 o 6, en el que R¹ y R² son metilo, R³ es hidrógeno y X es cloro.

40 8. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que el compuesto orgánico es un compuesto orgánico unido a resina.

9. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que el compuesto orgánico es una cadena lateral protegida y/o protegida en el extremo libre.

10. Un compuesto orgánico

5 el compuesto orgánico es un compuesto de una de las siguientes categorías (a) a (d):

(a) un péptido, en el que los residuos aminoacídicos son residuos aminoacídicos naturales;

(b) un alfa-aminoácido natural u homoarginina;

(c) un péptido seleccionado entre el grupo que consiste en Ac-Phe-Arg-Gly-Ala-Val-OH (SEC ID N°: 5), H-Phe-

10 Arg-Gly-Ala-Val-NH₂ (SEC ID N°: 6) y H-Arg-Gly-Ala-Gly-Gly-Lys(N^ε-tetradecanoil)-Ala-Gly-Gly-OH (SEC ID N°: 7);

(d) H-Ala-OMe;

15 comprendiendo dicho compuesto orgánico al menos un resto de fórmula (III), siendo el resto de fórmula (III) como se ha definido en la reivindicación 5.

11. El compuesto de la reivindicación 10, en el que el compuesto orgánico es un compuesto unido a resina.

20 12. El compuesto de las reivindicaciones 10 u 11, en el que el compuesto orgánico es una cadena lateral protegida y/o protegida en el extremo libre.

13. N-alfa-benciloxicarbonil-N-omega-(1,2-dimetilindol-3-sulfonil)-L-arginina.

14. N-alfa-Fmoc-N-omega-(1,2-dimetilindol-3-sulfonil)-L-arginina.