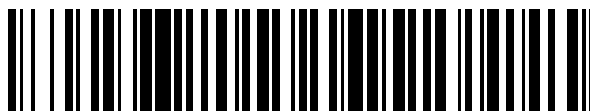


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 310**

51 Int. Cl.:

C07D 211/60 (2006.01)

C07B 61/00 (2006.01)

C08F 8/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2009** **E 09809349 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2015** **EP 2321277**

54 Título: **Conector pipecólico y su utilización para la química sobre un soporte sólido**

30 Prioridad:

29.08.2008 EP 08305512

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.02.2016

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (CNRS) (25.0%)**

3, rue Michel-Ange

75016 Paris, FR;

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER I (25.0%);

**UNIVERSITÉ MONTPELLIER 2 SCIENCES ET
TECHNIQUES (25.0%) y**

UNIVERSITE JAGELLONE (25.0%)

72 Inventor/es:

MARTINEZ, JEAN;

ZAJDEL, PAWEL;

PAWLOWSKI, MACIEJ y

SUBRA, GILLES

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 558 310 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

Conector pipecólico y su utilización para la química sobre un soporte sólido.

La presente invención se refiere a un conector pipecólico y a su utilización como conector de fase sólida en una síntesis orgánica. Dicho conector pipecólico de fase sólida puede utilizarse para acoplar grupos funcionales seleccionados entre aminas primarias, aminas secundarias, aminas aromáticas, alcoholes, fenoles y tioles. En particular, dicho conector pipecólico sobre fase sólida puede utilizarse para síntesis de péptidos, tal como síntesis de péptidos inversa N a C o síntesis de péptidos C a N, síntesis de pseudopéptidos, tal como síntesis de péptidos retroinverso, o síntesis de moléculas orgánicas pequeñas.

Desde su introducción en 1963, los soportes sólidos se convirtieron en una herramienta rutinaria para la síntesis de péptidos y pseudopéptidos. Posteriormente, la síntesis en fase sólida de pequeñas moléculas orgánicas se ha vuelto una importante herramienta para la generación de bibliotecas ordenadas de compuestos. En consecuencia, la aplicación de esta estrategia en empresas farmacéuticas y centros universitarios ha acelerado de forma general la identificación de posibles prototipos o la optimización de moléculas con potencial terapéutico dentro del procedimiento de descubrimiento de fármacos.

A pesar de las numerosas ventajas de los procesos químicos realizados sobre soporte sólido para la generación de bibliotecas, una de las barreras cruciales durante las etapas sintéticas es la estabilidad del grupo funcional que une la primera unidad estructural al soporte sólido. Este anclaje se lleva a cabo a través de un conector diseñado para producir, tras la desprotección, una funcionalidad determinada (es decir, ácidos carboxílicos, aminas primarias, aldehídos, etc.) o una familia de grupos funcionales relacionados. Como grupo protector, el conector tiene un papel clave en la elección de la estrategia sintética, determina las condiciones del proceso químico y las condiciones para el anclaje y la liberación de productos en el soporte sólido. Estos requisitos parecen ser los principales obstáculos para la aplicación generalizada de estrategias en fase sólida para la síntesis de diversos compuestos orgánicos. En este contexto, el desarrollo de un sistema conector robusto y versátil tiene mucha importancia para acelerar y facilitar la producción de bibliotecas.

Entre las funcionalidades específicas seleccionadas para el anclaje a un soporte sólido, tienen un gran interés las aminas y los alcoholes. Esto se debe a la elevada presencia de estas funcionalidades en las estructuras de los compuestos bioactivos (Boschi y otros, 2006; Nam y otros, 2003; Stromgaard y otros, 2001). Además, en el campo de la química de los péptidos y pseudopéptidos, estos restos tienen una importancia especial. La estrategia SPPS estándar consiste en el anclaje del extremo C del ácido carboxílico, seguido del prolongamiento peptídico C a N para minimizar el fenómeno de la epimerización. Sin embargo, el interés que despierta la búsqueda de nuevos y potentes compuestos, así como de productos intermedios sintéticos para bioconjugación o ligación, requiere a menudo la modificación del extremo C para introducir funcionalidades tales como alcoholes, éteres, ésteres, tioésteres, N-alquilamidas, hidrazidas o aldehídos, o para obtener péptidos cíclicos. Dichas modificaciones pueden dar lugar a una estabilidad enzimática y una solubilidad mayores de los compuestos obtenidos, así como a una mayor capacidad para cruzar las barreras biológicas. Un anclaje alternativo sobre un soporte sólido permite mantener el extremo C del péptido libre para otras modificaciones químicas.

Para alcanzar estos objetivos, pueden distinguirse tres estrategias principales: el anclaje de la cadena principal a través de un enlace amida secundaria, el anclaje de cadenas laterales a través de determinados residuos y el anclaje del extremo N al soporte sólido.

El conector más importante para el anclaje de la cadena principal es un conector funcionalizado con aldehído, por ejemplo el BAL ("backbone amide linker"). Dicho conector ha sido ampliamente utilizado no sólo para la síntesis de péptidos con el extremo C modificado (Albericio y otros, 1999a; Alsina y otros, 1999) y péptidos cíclicos (Jensen y otros, 1998), sino también para la generación de pequeños compuestos heterocíclicos (Albericio y otros, 1999b).

La segunda estrategia exige un conector específico, adaptado para el anclaje de un residuo aminoácido de la cadena lateral, por ejemplo, el grupo guanidina de la arginina (Hamze y otros, 2004), el grupo alcohol de la serina y la treonina (Subra y otros, 2002), el grupo amina de la ornitina y la lisina, o el ácido carboxílico de los ácidos aspártico y glutámico. Cabe puntualizar que esta estrategia permite la modificación simultánea del péptido en los extremos N y C.

Por último, la estrategia de anclaje del extremo N se aplica principalmente cuando se necesita llevar a cabo la SPPS en sentido inverso. Esta estrategia tiene un interés cada vez mayor para la síntesis de peptidomiméticos, ya que deja las funciones ácido carboxílico a punto para ser sometidas a transformaciones químicas. Con este propósito, es necesario un conector adecuado para fijar la amina aminoterminal al soporte sólido. (Cantel y otros, 2004; Cantel y otros, 2003).

Estas consideraciones llevaron a los presentes inventores a desarrollar un conector versátil, adecuado para la inmovilización de restos ricos en electrones, entre ellos aminas y alcoholes, que pudiera aplicarse a la química orgánica en fase sólida, así como a la química de péptidos y pseudopéptidos, por anclaje de cadena lateral o de

extremo N.

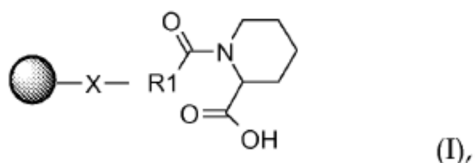
Entre los conectores, los conectores lábiles a TFA son particularmente útiles para la producción de bibliotecas combinatorias. De hecho, en esta metodología los acondicionamientos de escisión y postescisión son sencillos y a menudo sólo requieren una simple evaporación del TFA, que se puede llevar a cabo en paralelo utilizando un centrifugador de vacío o burbujeando un gas inerte.

Los conectores lábiles en medio ácido disponibles en el mercado no son tan comunes para el anclaje y la liberación eficientes de compuestos que contienen grupos amina o alcohol. Los conectores de tipo tritilo impedidos, tales como los conectores de cloruro de 2-clorotritilo o 4-carboxi clorotritilo, proporcionan una ruta directa al anclaje de una amplia variedad de nucleófilos. Sin embargo, la eficiencia de carga disminuye significativamente cuando se utilizan nucleófilos voluminosos o no reactivos, tales como aminas aromáticas o alcoholes. Además, los conectores de tipo tritilo son muy sensibles al tratamiento con ácido, lo que puede ser una gran ventaja pero también un inconveniente cuando se requieren condiciones ácidas suaves durante la ruta sintética sobre soporte sólido para los compuestos diana. La principal alternativa a la inmovilización directa de aminas o alcoholes es la utilización de un enlace carbamato o carbonato constituido sobre una resina funcionalizada con alcohol, tal como un conector hidroximetilfenoxi lábil en medio ácido (resina Wang, por ejemplo), un conector HMBA o simplemente un soporte de hidroximetil poliestireno lábil a HF. Sin embargo, esta estrategia requiere, antes de la inmovilización de la primera unidad estructural, la derivatización del conector de alcohol como producto intermedio activado, como carbonato de p-nitrofenilo o carbonato de imidazol, y los rendimientos de carga suelen ser muy bajos. Además de este inconveniente, este tipo de enlace no siempre es estable frente a un ataque nucleófilo (Cantel y otros, 2004).

Berst y otros dan a conocer una síntesis en fase sólida de apicidin A y un análogo cíclico tetrapeptido (Chem. Commun., vol. 2002, 2002, páginas 508-509). Rubini y otros dan a conocer estudios de mecanismo para la escisión del enlace amida durante la desprotección acidolítica de péptidos que contienen pip (J. Pept. Sci., vol. 14, 14 de abril de 2008, páginas 989-997). El documento WO 00/05243 da a conocer un soporte sólido para la síntesis de péptidos.

La presente invención se refiere al diseño y la utilización de un nuevo conector lábil en medio ácido basado en la estructura del ácido piperídico. La función carboxílica de este conector puede activarse fácilmente para anclar nucleófilos, tales como aminas o alcoholes, a través de enlaces amida o éster, respectivamente (véase el esquema de síntesis 2 en la parte III de los ejemplos). El conector puede alojar una amplia gama de unidades estructurales y su utilización se ha demostrado en el anclaje de cadenas laterales y de extremo N de péptidos y pseudopéptidos. A continuación, los péptidos o pseudopéptidos se pueden liberar del soporte sólido del conector piperídico por hidrólisis ácida. Se cree que dicha hidrólisis ácida se ve favorecida por las propiedades espaciales del conector piperídico y se ve reforzada por la naturaleza de los sustituyentes R₁.

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a una combinación fase sólida-conector con la siguiente fórmula:



en la que



representa un soporte sólido utilizado en síntesis orgánica,

X está ausente o representa -NR₂-, -NR₂-CO-, -S-CO-, -O-, -CO-NR₂-, -S-, -CO-S-, -CO-O-, -O-CO-, -SO₂-NR₂- o -NR₂SO₂-, donde R₂ representa H o un alquilo (C₁-C₆), ventajosamente H, entendiéndose que X puede estar separado del soporte sólido mediante un espaciador, y

R₁ representa un grupo alquilo (C₃-C₃₀) ramificado, un grupo alquenoilo (C₃-C₃₀) ramificado, un grupo alquinilo (C₃-C₃₀) ramificado, un grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, un alquilo (C₁-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, un alquenoilo (C₂-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, o un alquinilo (C₂-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico.

En la presente invención, la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) también puede denominarse "soporte sólido de conector piperídico".

En la presente invención, los términos "soporte sólido", "fase sólida", "matriz" y "resina" se refieren, indistintamente, a un soporte de uso convencional en química orgánica, y particularmente en la síntesis de péptidos. Ventajosamente, el soporte sólido se elige entre soportes de poliestireno, soportes de poliamida, soportes de polietilenglicol, soportes

poliacrílicos, soportes compuestos y copolímeros de los mismos, tales como soportes de copolímero de poliacrílico/beta-alanina, soportes de copolímero de poliacrilamida/poliestireno, soportes de copolímero de poliacrilamida/polietilenglicol y soportes de copolímero de polietilenglicol/poliestireno, siendo posible que dicho soporte se presente en forma de perlas, de soporte recubierto con película, tal como anillos o farolillos, de tapón o de soporte soluble no reticulado.

Más ventajosamente, el soporte sólido se selecciona entre:

- (i) perlas de resinas gelatinosas o macroporosas que tienen una matriz con una base de poliestireno (PS), o que tienen una matriz con una base de poliamida (PL) o una base de polietilenglicol (PEG), o bien soportes de material compuesto de tipo polietilenglicol-poliestireno (PEG-PS) o polietilenglicol-dimetilacrilamida (PEGA), y
- (ii) soportes recubiertos con película, tal como SynPhase Lanterns® (Mimotopes, Australia), que están constituidos por un polímero de superficie móvil injertado en un polímero de base no reactivo rígido, en el que su forma única de "farolillo" proporciona la máxima área de superficie, un flujo libre de los reactivos y un drenaje rápido de las soluciones de lavado.

En la presente invención, cuando X está ausente, el grupo R_1 está directamente enlazado al soporte sólido.

Alternativamente, cuando X está presente, X se deriva del anclaje del conector pipécólico de fórmula (XI), tal como se da a conocer a continuación, al soporte sólido funcionalizado. El soporte sólido de la presente invención está funcionalizado con una función preX, capaz de reaccionar con el conector pipécólico, en el que R_1 se ha funcionalizado con un grupo funcional Y por un proceso bien conocido por el experto en la materia. Por ejemplo, un soporte que presenta la función $-NH_2$ reaccionará con el conector pipécólico de fórmula (XI), en el que R_1 se ha funcionalizado con $Y = -COOH$, obteniéndose que X es $-NHCO-$ (véase el esquema de síntesis 1 de la parte I de los ejemplos, donde R_1 es un grupo ciclohexilo). En otro ejemplo, un soporte que presenta la función $-COOH$ reaccionará con el conector pipécólico de fórmula (XI), en el que R_1 se ha funcionalizado con $Y = -NH_2$, obteniéndose que X es $-CO-NH-$. En el presente documento, la función del soporte sólido que reacciona con el Y del conector pipécólico funcionalizado se denomina "preX" para mayor facilidad de comprensión (en el esquema de síntesis 1, preX = NH_2). Por consiguiente, por reacción entre preX e Y, se obtiene X.

Preferentemente, X representa $-O-CO-$, $-NH-CO-$, $-CO-O-$ o $-CO-NH-$, más preferentemente $-O-CO-$ o $-NH-CO-$, aún más preferentemente $-NH-CO-$.

Ventajosamente, el soporte sólido funcionalizado con la función preX es una resina de clorometilo-poliestireno, en la que la función preX es $Cl-CH_2-$, una resina de poliestireno funcionalizada con alcohol benciloxibencílico en la que la función preX es $HO-$, una resina de aminometilo-poliestireno (AM-PS) en la que la función preX es NH_2 , o una resina de metilbenzidrilamina-poliestireno, tal como una resina de 4-metilbenzidrilamina-poliestireno, en la que la función preX es NH_2 . Más ventajosamente, el soporte sólido funcionalizado con la función preX es una resina de aminometilo-poliestireno (AM-PS) o una resina de 4-metilbenzidrilamina-poliestireno.

En la presente invención, X también puede estar separado del soporte sólido mediante un espaciador. En la presente invención, los términos "brazo" y "espaciador" se utilizan indistintamente y se refieren a cualquier fragmento bien conocido y comúnmente utilizado por el experto en la materia, particularmente uno que se utiliza para la síntesis de péptidos, que puede injertarse en el soporte sólido. En caso de que X esté separado del soporte sólido mediante un espaciador, debe entenderse que X se deriva de la función preX contenida en dicho espaciador. Ventajosamente, el fragmento se elige entre amida Rink (Rink se refiere a 4-[2',4'-dimetoxifenil-(9-fluorometiloxycarbonil)aminometil]fenoxi-) que contiene la función preX = NH_2 , clorotritilo que contiene la función preX = $Cl-C$, hidroximetilbenzilacetamida que contiene la función preX = $HO-$, amida Sieber (Sieber se refiere a 9-aminoxanten-3-iloxi-) que contiene la función preX = OH_2- , aminometil-3,5-dimetoxifenoxialquilo que contiene la función preX = NH_2 , aminometil-3-dimetoxifenoxialquilo que contiene la función preX = NH_2 , hidroximetil-3,5-dimetoxifenoxialquilo que contiene la función preX = $OH-$ e hidroximetil-3-dimetoxifenoxialquilo que contiene la función preX = $OH-$.

En el contexto de la presente invención, "alquilo (C_1-C_6)" se refiere a cualquier radical hidrocarburo saturado lineal o ramificado que tiene de uno a seis átomos de carbono. Entre los ejemplos de radicales alquilo (C_1-C_6) se incluyen, aunque sin limitarse a los mismos, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, 1-etilpropilo, sec-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo, etc.

En el contexto de la presente invención, "grupo alquilo (C_3-C_{30}) ramificado" se refiere a cualquier radical hidrocarburo saturado ramificado que tiene de tres a treinta átomos de carbono. Entre los ejemplos de radicales alquilo (C_3-C_{30}) ramificados se incluyen, aunque sin limitarse a los mismos, isopropilo, 1-etilpropilo, sec-butilo, terc-butilo, isohexadecilo, etc.

En el contexto de la presente invención, "grupo alquilo (C_3-C_{30}) ramificado" se refiere a cualquier radical alqueno saturado ramificado que tiene de tres a treinta átomos de carbono. Entre los ejemplos de radicales

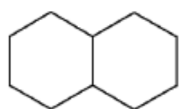
alqueniilo (C_3 - C_{30}) ramificados se incluyen, aunque sin limitarse a los mismos, isopropeniilo, isobuteniilo, sec-buteniilo, terc-buteniilo, isopenteniilo, etc.

En el contexto de la presente invención, "grupo alqueniilo (C_3 - C_{30}) ramificado" se refiere a cualquier radical alqueniilo hidrocarburo ramificado que tiene de tres a treinta átomos de carbono. Entre los ejemplos de radicales alqueniilo (C_3 - C_{30}) ramificados se incluyen, aunque sin limitarse a los mismos, isobuteniilo, isopenteniilo, etc.

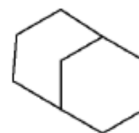
En la presente invención, las expresiones "grupo hidrocarbonado monocíclico o policíclico", "grupo monocíclico o policicloalquilo" y "grupo cicloalquilo monocíclico o policíclico" se utilizan indistintamente.

En la presente invención, la expresión "grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico", o también "grupo (C_4 - C_{12}) monocíclico o policicloalquilo", se refiere indistintamente a un grupo hidrocarbonado saturado que comprende uno o más ciclos, ventajosamente 1, 2, 3, 4, 5 o 6 ciclos, ventajosamente 1, 2 o 3 ciclos, siendo cada ciclo un ciclo de 4, 5, 6 o 7 miembros, más ventajosamente un ciclo de 5 o 6 miembros. Debe apreciarse asimismo que, en el caso en el que el grupo policíclico comprende 2 ciclos, dichos ciclos pueden ser de tipo fusionados o de tipo puente, o pueden estar unidos por una unión de tipo espiro, o un átomo de carbono de un ciclo del grupo (C_4 - C_{12}) hidrocarbonado policíclico forma un enlace covalente con un átomo de carbono de otro ciclo del grupo (C_4 - C_{12}) hidrocarbonado policíclico.

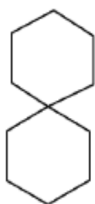
Por ejemplo, un grupo hidrocarbonado bicíclico en el que cada ciclo es un ciclo de 6 miembros puede ser:



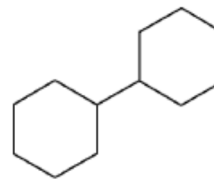
fusionado



con puente



con una unión espiro,



con un enlace C-C,

Si el grupo policíclico comprende más de 2 ciclos, el experto en la materia apreciará que puede darse una combinación de estas configuraciones de ciclos.

Debe apreciarse también que uno o más de dichos ciclos del grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico puede ser un heterociclo, lo que significa que dichos ciclos incorporan uno o más, ventajosamente uno o dos, heteroátomos (seleccionados ventajosamente entre átomos de nitrógeno, oxígeno o azufre).

Otros ejemplos de grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico son los grupos ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, adamantilo o norbornilo. Ventajosamente, el grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico es un grupo hidrocarbonado (C_5 - C_{10}) monocíclico o policíclico, más ventajosamente un grupo hidrocarbonado C_5 o C_6 monocíclico o policíclico. Más ventajosamente, el grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico es un grupo ciclopentilo, ciclohexilo, adamantilo o norbornilo.

La expresión "alquilo (C_1 - C_6)-grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico" se refiere a cualquier grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico, tal como se ha definido anteriormente, enlazado al grupo X o Y, o al soporte sólido, mediante un grupo alquilo (C_1 - C_6), tal como se ha definido anteriormente. Además, en el caso de un alquilo (C_1 - C_6)-grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico, el grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico puede referirse además a grupos hidrocarbonados insaturados o parcialmente saturados, tales como, por ejemplo, grupos hidrocarbonados monocíclicos o policíclicos en los que, respectivamente, el ciclo, o por lo menos un ciclo del grupo hidrocarbonado policíclico, ventajosamente todos los ciclos del grupo hidrocarbonado policíclico, es un ciclo arilo, ventajosamente un ciclo fenilo.

La expresión "alqueniilo (C_2 - C_6)-grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico" se refiere a cualquier grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico, tal como se ha definido anteriormente, enlazado al grupo X o Y, o al soporte sólido, mediante un grupo alqueniilo (C_2 - C_6). La expresión "grupo alqueniilo (C_2 - C_6)" se refiere a cualquier radical alqueniilo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono. Entre los ejemplos de radicales alqueniilo (C_2 - C_6) se incluyen, aunque sin limitarse a los mismos, etenilo, propeniilo, buteniilo, penteniilo, etc. En el caso de un alqueniilo (C_2 - C_6)-grupo hidrocarbonado (C_4 - C_{12}) monocíclico o policíclico, el grupo hidrocarbonado

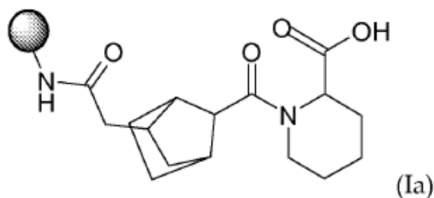
(C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico puede además referirse a grupos hidrocarbonados insaturados o parcialmente saturados, tales como, por ejemplo, grupos hidrocarbonados monocíclicos o policíclicos en los que, respectivamente, el ciclo, o por lo menos un ciclo del grupo hidrocarbonado policíclico, ventajosamente todos los ciclos del grupo hidrocarbonado policíclico, es un ciclo arilo, ventajosamente un ciclo fenilo.

La expresión "alquinilo (C₂-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico" se refiere a cualquier grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, tal como se ha definido anteriormente, enlazado al grupo X o Y, o al soporte sólido, mediante un grupo alquinilo (C₂-C₆). La expresión "grupo alquinilo (C₂-C₆)" se refiere a cualquier radical alquinilo hidrocarburo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono. Entre los ejemplos de radicales alquinilo (C₂-C₆) se incluyen, aunque sin limitarse a los mismos, etinilo, propinilo, 1-butinilo, etc. En el caso de un alquinilo (C₂-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, el grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico puede referirse además a grupos hidrocarbonados insaturados o parcialmente saturados, tales como, por ejemplo, grupos hidrocarbonados monocíclicos o policíclicos en los que, respectivamente, el ciclo, o por lo menos un ciclo del grupo hidrocarbonado policíclico, ventajosamente todos los ciclos del grupo hidrocarbonado policíclico, es un ciclo arilo, ventajosamente un ciclo fenilo.

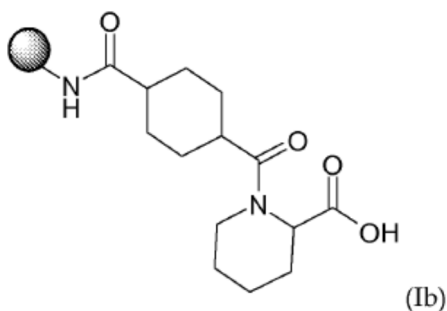
Ventajosamente, uno o más de los ciclos del alquilo (C₁-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, saturado o parcialmente saturado, del alquenilo (C₂-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, insaturado o parcialmente saturado, o del alquinilo (C₂-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico, saturado o parcialmente saturado, pueden ser un heterociclo que presenta uno o más, ventajosamente uno o dos, heteroátomos (ventajosamente, un átomo de nitrógeno, oxígeno o azufre).

Más ventajosamente, el "alquilo (C₁-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico" es un alquilo (C₁-C₃)-grupo hidrocarbonado (C₅-C₁₀) monocíclico o policíclico. Aún más ventajosamente, el alquilo (C₁-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico es un metilo-grupo hidrocarbonado C₅ o C₆ monocíclico o policíclico. De la forma más ventajosa, el alquilo (C₁-C₆)-grupo hidrocarbonado (C₄-C₁₂) monocíclico o policíclico es un grupo norborn-2-ilo-metilo.

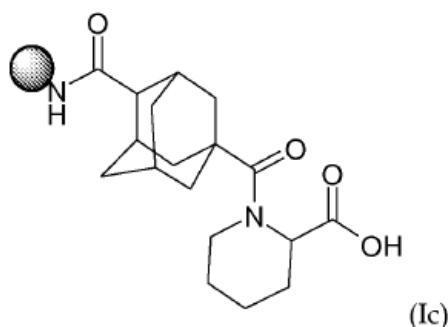
En una forma de realización particularmente preferida de la presente invención, la combinación fase sólida-conector está representada por una fórmula seleccionada entre las siguientes fórmulas:



en la que es tal como se ha definido anteriormente, R₁ es un norborn-2-ilo-metilo y X es -NH-CO-,

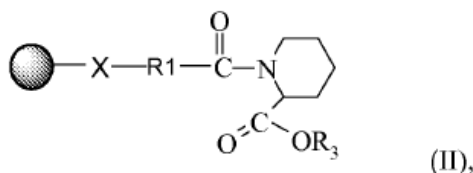


en la que es tal como se ha definido anteriormente, R₁ es un ciclohexilo y X es -NH-CO-, y



en la que es tal como se ha definido anteriormente, R_1 es un adamantilo y X es -NH-CO-,

- 5 La presente invención también se refiere a un procedimiento para preparar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención, que comprende la etapa (d1) de desprotección de la combinación fase sólida-conector de fórmula siguiente



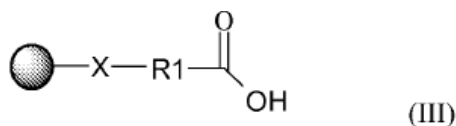
10 en la que R_1 es tal como se ha definido anteriormente,

R_3 es un grupo protector de O, y y X son tal como se han definido anteriormente.

- 15 En el contexto de la presente invención, el término “grupo protector de O” se refiere a un sustituyente que protege los grupos hidroxilo frente a reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos, tal como los grupos protectores de O descritos en Greene, “Protective Groups In Organic synthesis”, (John Wiley & Sons, Nueva York (1981)). Entre los grupos protectores de O se incluyen éteres metílicos sustituidos, por ejemplo, metoximetilo (MOM), benciloximetilo, 2-metoxietoximetilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo, t-butilo, bencilo y trifenilmetilo, éteres de tetrahidropiraniolo, éteres etílicos sustituidos, por ejemplo, 2,2,2-tricloroetilo, éteres de sililo, por ejemplo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo (TBS) y t-butildifenilsililo; y ésteres preparados haciendo reaccionar el grupo hidroxilo con un ácido carboxílico, por ejemplo, acetato, propionato, benzoato y similares.

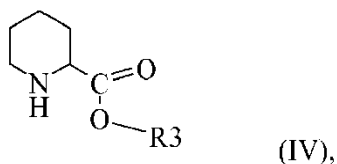
25 En una forma de realización preferida, el grupo R_3 protector de O es un alquilo (C_1 - C_6), ventajosamente un grupo metilo, y la etapa de desprotección (d1) se lleva a cabo por saponificación con una solución de LiOH en un disolvente, tal como tetrahidrofurano.

Ventajosamente, la combinación fase sólida-conector de fórmula (II) se obtiene por (c1) reacción de la combinación fase sólida-conector de fórmula



en la que , X y R_1 son tal como se han definido anteriormente,

35 con un compuesto de fórmula

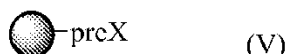


en la que R₃ es tal como se ha definido anteriormente. Ventajosamente, R₃ es un alquilo (C₁-C₆), más ventajosamente un grupo metilo.

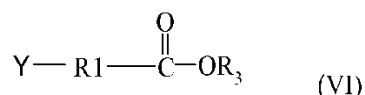
5 En otra forma de realización preferida, la etapa de reacción (c1) se lleva a cabo con acoplamiento de amida promovido por hexafluorofosfato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilfosonio en presencia de trietilamina en un disolvente, tal como dimetilformamida.

En una forma de realización ventajosa, la combinación fase sólida-conector de fórmula (III) se obtiene:

10 (a1) haciendo reaccionar una fase sólida funcionalizada de fórmula



15 en la que  es tal como se ha definido anteriormente y preX es un grupo funcional del soporte sólido que reacciona, a fin de obtener X, con el grupo funcional Y del compuesto de fórmula



en la que R_1 y R_3 son tal como se han definido anteriormente, y

(b1) proteger con un grupo de protección terminal apropiado las funciones -preX de la combinación fase sólida-conector de fórmula (V) que no han reaccionado con Y del compuesto de fórmula (VI).

25 En la presente memoria, el término “grupo de protección terminal” se refiere a un sustituyente que protege las funciones -preX del soporte sólido que no han reaccionado con el compuesto de fórmula (VI). Esto permite el bloqueo de dichas funciones frente a reacciones indeseables durante la utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) en aplicaciones posteriores, tales como la síntesis de péptidos. Los grupos de protección terminal son bien conocidos por el experto en la materia y se seleccionan según la función-preX del soporte sólido.

30 Más preferentemente, cuando la función -preX es -NH₂, el grupo de protección terminal adecuado que se utiliza en la etapa de protección (b1) es el grupo protector de N acetilo, y la etapa de protección (b1) se lleva a cabo utilizando anhídrido acético en un disolvente, tal como diclorometano.

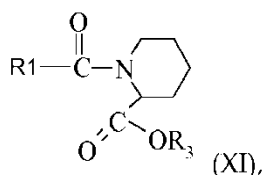
Una etapa ventajosa (a1) es aquella en la que -preX es -NH₂ e Y es -COOH.

Ventajosamente, la etapa (a1) se lleva a cabo utilizando una mezcla de acoplamiento que comprende diisopropilcarbodiimida e hidroxibenzotriazol en un disolvente, tal como dimetilformamida. Dicha mezcla de acoplamiento es muy apropiada cuando -preX es -NH₂, pero también se puede utilizar con otras funciones, tal como cuando preX es -OH. Otra mezcla de acoplamiento que se puede utilizar es 4-dimetilaminopiridina en presencia de diisopropilcarbodiimida, en particular cuando -preX es -OH.

El proceso de preparación de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) se describe en la parte I de los ejemplos y en el siguiente esquema de síntesis 1.

45 La presente invención se refiere también a un procedimiento para preparar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención, en el que el compuesto de fórmula (XI), tal como se define a continuación, está funcionalizado con el grupo funcional Y y se acopla con el compuesto de fórmula (V), tal como se ha definido anteriormente.

50 La presente invención se refiere también a un compuesto que presenta la siguiente fórmula:



en la que R_1 y R_3 son tal como se han definido anteriormente.

En la presente invención, el compuesto de fórmula (XI) se denomina “conector pipecólico”.

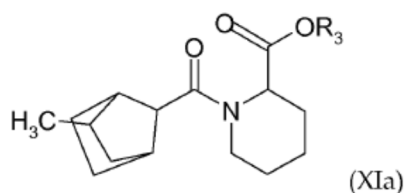
Ventajosamente, R_3 es un alquilo (C_1-C_6), más ventajosamente un grupo metilo.

5 Ventajosamente, R_1 se funcionaliza con un grupo funcional Y por un proceso bien conocido por el experto en la materia, en el que Y es tal como se ha definido anteriormente.

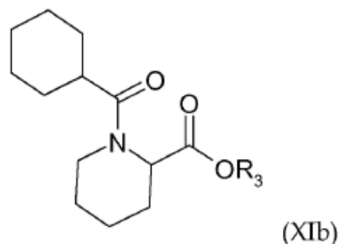
Ventajosamente, Y representa -OH, -COOH, -NHR₂, -SO₂, -SO₃H o -SH. Más ventajosamente, Y es -COOH o -NH₂, aún más ventajosamente -COOH.

10 Preferentemente, R_1 es un grupo hidrocarbonado (C_5-C_{10}) monocíclico o policíclico, más preferentemente un grupo hidrocarbonado C_5 o C_6 monocíclico o policíclico. En una forma de realización alternativa preferente, R_1 es un alquilo (C_1-C_3)-grupo hidrocarbonado (C_5-C_{10}) monocíclico o policíclico, más preferentemente un metilo-grupo hidrocarbonado C_5 o C_6 monocíclico o policíclico.

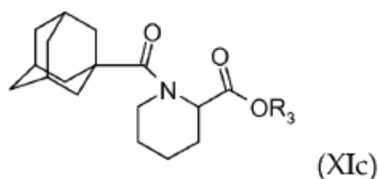
15 En una forma de realización particularmente preferida de la presente invención, el conector pipecólico está representado por una fórmula seleccionada entre las siguientes fórmulas:



20 en la que R_1 es un norborn-2-ilo-metilo y R_1 está funcionalizado ventajosamente con un grupo funcional Y, y R_3 es tal como se ha definido anteriormente,



25 en la que R_1 es un ciclohexilo y R_1 está funcionalizado ventajosamente con un grupo funcional Y, y R_3 es tal como se ha definido anteriormente, y



30 en la que R_1 es un adamantilo y R_1 está funcionalizado ventajosamente con un grupo funcional Y, y R_3 es tal como se ha definido anteriormente.

Ventajosamente, R_3 es un alquilo (C_1-C_6), más ventajosamente un grupo metilo.

35 La presente invención se refiere también a la utilización del compuesto de fórmula (XI), tal como se ha definido anteriormente, como conector sobre fase sólida.

40 En otro aspecto, la presente invención se refiere a la utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención, para el acoplamiento de grupos funcionales seleccionados entre aminas primarias, aminas secundarias, aminas aromáticas, alcoholes, fenoles y tioles.

El siguiente esquema de síntesis 2 (parte III de los ejemplos) describe la utilización general de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención.

45 La reacción de acoplamiento se puede llevar a cabo utilizando reactivos de acoplamiento adecuados que son bien conocidos por el experto en la materia, tales como DIC/HOBt, DIC/HOAt, DCC/HOSu, DCC/HOBT, PyBop/DIEA,

PyBrop/NMM, HBTU/TEA, EDC/HOBt y similares. Ventajosamente, la utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención es para el acoplamiento de aminas no aromáticas secundarias y primarias, en el que la reacción de acoplamiento se lleva a cabo utilizando activación por hexafluorofosfato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilfosfonio en presencia de diisopropiletilamina en un disolvente, tal como dimetilformamida.

En otra forma de realización ventajosa, la utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención es para el acoplamiento de aminas aromáticas primarias, en el que la reacción de acoplamiento se lleva a cabo utilizando activación por hexafluorofosfato de N-óxido de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo-[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanaminio en presencia de 2,4,6-trimetilpiridina en un disolvente tal como dimetilformamida.

La presente invención se refiere también a la utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención para la síntesis de moléculas orgánicas pequeñas, tales como, por ejemplo, piperazin-1-il-m-tolil-metanona.

La presente invención se refiere además a la utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención para la síntesis de péptidos inversa N a C, la síntesis de péptidos C a N o síntesis de pseudopéptidos, tal como la síntesis de péptidos retroinverso.

Más particularmente, la presente invención se refiere a un proceso de síntesis de péptidos inversa N a C, que comprende las siguientes etapas sucesivas:

(a2) acoplar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención a aminoácidos protegidos en COO, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener aminoácidos protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector,

(b2) desproteger en COO los aminoácidos acoplados a la combinación fase sólida-conector,

(c2) acoplar los aminoácidos desprotegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector obtenidos en la etapa (b2) a aminoácidos protegidos en COO, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener péptidos protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector,

(d2) opcionalmente, repetir las etapas (b2) y (c2) tantas veces como sea necesario para obtener una combinación fase sólida-conector cargada con cadenas peptídicas,

(e2) escindir el enlace entre la combinación fase sólida-conector y las cadenas peptídicas a fin de recuperar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) y las cadenas peptídicas.

En la presente memoria, el término "aminoácido protegido en COO" se refiere a un aminoácido cuyo grupo COO está protegido por un sustituyente con el fin de evitar reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos. Los grupos protectores de COO de los aminoácidos protegidos en COO se describen en Greene, "Protective Groups in Organic synthesis", (John Wiley & Sons, Nueva York, 1981). Entre los grupos protectores de COO se incluyen éteres metílicos sustituidos, por ejemplo, metoximetilo (MOM), benciloximetilo, 2-metoxietoximetilo, 2-(trimetilsilil)etoximetilo, t-butilo, bencilo y trifenilmetilo, éteres de tetrahidropiraniolo, éteres etílicos sustituidos, por ejemplo, 2,2,2-tricloroetilo, éteres de sililo, por ejemplo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo (TBS) y t-butildifenilsililo; y ésteres preparados haciendo reaccionar el grupo hidroxilo con un ácido carboxílico, por ejemplo, acetato, propionato, benzoato y similares. En particular, el grupo protector de COO del aminoácido protegido en COO es un grupo alquilo (C₁-C₆), ventajosamente un metilo, y la etapa de desprotección de COO (b2) se lleva a cabo por saponificación con una solución de LiOH en un disolvente, tal como tetrahidrofurano.

Además, en la presente invención, las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos pueden protegerse frente a reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos utilizando sustituyentes adecuados bien conocidos por el experto en la materia.

En la presente invención, el término "aminoácidos" se refiere a todos los residuos α-aminoácidos naturales (por ejemplo, alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), cisteína (Cys), glutamina (Gln), ácido glutámico (Glu), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), leucina (Leu), lisina (Lys), metionina (Met), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano (Trp), tirosina (Tyr) y valina (Val)) en forma D o L, así como a aminoácidos no naturales (por ejemplo, β-alanina, alilglicina, terc-leucina, norleucina (Nle), ácido 3-amino-adípico, ácido 2-aminobenzoico, ácido 3-aminobenzoico, ácido 4-aminobenzoico, ácido 2-aminobutanoico, 4-amino-1-carboximetilpiperidina, ácido 1- amino-1-ciclobutanocarboxílico, ácido 4-aminociclohexanoacético, ácido 1-amino-1-ciclohexanoacético, ácido 1- amino-1-ciclobutanocarboxílico, ácido (1R,2R)-2-aminociclohexanoacético, ácido (1R,2S)-2-aminociclohexanoacético, ácido (1S,2R)-2-aminociclohexanoacético, ácido (1S,2S)-2-aminociclohexanoacético,

aminociclohexanocarboxílico, ácido 3-aminociclohexanocarboxílico, ácido 4-aminociclohexanocarboxílico, ácido (1R,2R)-2-aminociclopentanocarboxílico, ácido (1R,2S)-2-aminociclopentanocarboxílico, ácido 1-amino-1-ciclopentanocarboxílico, ácido 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico, ácido 4-(2-aminoetoxy)benzoico, ácido 3-aminometilbenzoico, ácido 4-aminometilbenzoico, ácido 2-aminobutanoico, ácido 4-aminobutanoico, ácido 6-aminohexanoico, ácido 1-aminoindano-1-carboxílico, ácido 4-aminometil-fenilacético, ácido 4-aminofenilacético, ácido 3-amino-2-naftoico, ácido 4-aminofenilbutanoico, ácido 4-amino-5-(3-indolil)-pentanoico, ácido (4R,5S)-4-amino-5-metilheptanoico, ácido (R)-4-amino-5-metilhexanoico, ácido (R)-4-amino-6-metilhexanoico, ácido (S)-4-amino-pentanoico, ácido (R)-4-amino-5-fenilpentanoico, ácido 4-aminofenilpropiónico, ácido (R)-4-aminopimérico, ácido (4R,5R)-4-amino-5-hidroxihexanoico, ácido (R)-4-amino-5-hidroxipentanoico, ácido (R)-4-amino-5-(p-hidroxifenil)pentanoico, ácido 8-amino-octanoico, ácido (2S,4R)-4-amino-pirrolidin-2-carboxílico, ácido (2S,4S)-4-amino-pirrolidin-2-carboxílico, ácido azetidín-2-carboxílico, ácido (2S,4R)-4-bencil-pirrolidin-2-carboxílico, ácido (S)-4,8-diamino-octanoico, terc-butilglicina, γ -carboxiglutamato, β -ciclohexilalanina, citrulina, ácido 2,3-diaminopropiónico, ácido hipúrico, homociclohexilalanina, moleucina, homofenilalanina, 4-hidroxiprolina, ácido indolín-2-carboxílico, ácido isonipecótico, α -metil-alanina, ácido nicopético, norvalina, ácido octahidroindol-2-carboxílico, ornitina, penicilamina, fenilglicina (Phg), ácido 4-fenil-pirrolidin-2-carboxílico, propargilglicina, 3-piridinilalanina, 4-piridinilalanina, ácido 1-pirrolidin-3-carboxílico, sarcosina, estatinas, ácido tetrahydroisoquinolín-1-carboxílico, ácido 1,2,3,4-tetrahydroisoquinolín-3-carboxílico, ácido tranexámico, 4,4-difluoroprolina, 4-fluoroprolina, alfa-(3,4-difluorobencil)prolina, gamma-(3,4-difluorobencil)prolina, alfa-(trifluorometil)fenilalanina, hexafluoroleucina, 5,5,5-trifluoroleucina, 6,6,6-trifluoronorleucina, 2-(trifluorometil)leucina, 2-(trifluorometil)norleucina, 4,4,4-trifluorovalina, 4,4,4,4',4',4'-hexafluorovalina, pentafluorofenilalanina, 2,3-difluorofenilalanina, 2,4-difluorofenilalanina, 2,5-difluorofenilalanina, 2,6-difluorofenilalanina, 3,4-difluorofenilalanina, 3,5-difluorofenilalanina, 3,3-difluoro-3-(4-fluorofenil)alanina, 2,3-difluorofenilglicina, 2,4-difluorofenilglicina, 2,5-difluorofenilglicina, 3,4-difluorofenilglicina, 4,4-difluoroetilglicina, 4,4,4-trifluoroetilglicina y hexafluoronorleucina).

En la presente invención, el término "péptido" se refiere a una secuencia de aminoácidos tal como se ha definido anteriormente. Dicha secuencia puede ser lineal o cíclica. Por ejemplo, puede resultar un péptido cíclico de la formación de un puente disulfuro entre dos residuos de cisteína en una secuencia. En otro ejemplo, puede resultar un péptido cíclico de la formación de un enlace amina entre sus partes carboxiterminal y aminoterminal, o entre las cadenas laterales de los aminoácidos Asp y Lys. Las técnicas para la ciclación de un péptido y para la obtención de un péptido cíclico utilizando un soporte sólido son bien conocidas por el experto en la materia.

La etapa de acoplamiento (a2) y/o (c2) se puede llevar a cabo con activación por hexafluorofosfato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilfosfonio en presencia de diisopropiletilamina en un disolvente, tal como dimetilformamida.

En otra forma de realización preferida, la etapa de acoplamiento (a2) y/o (c2) se lleva a cabo con activación por hexafluorofosfato de N-óxido de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanaminio en presencia de 2,4,6-trimetilpiridina en un disolvente, tal como dimetilformamida, a fin de evitar la epimerización de los aminoácidos.

La etapa de escisión (e2) se puede llevar a cabo en condiciones ácidas, tales como, por ejemplo, con ácido trifluoroacético (TFA), preferentemente en una dosis comprendida entre el 1% y el 100%, más preferentemente entre el 10% y el 100%, o en ácido acético (AcOH), preferentemente en una dosis comprendida entre el 10% y el 100%.

Preferentemente, el proceso de síntesis de péptidos inversa N a C según la presente invención comprende, antes o después de la etapa (e2), otra etapa (f2), que consiste en desproteger las cadenas laterales de aminoácido de las cadenas peptídicas y/o desproteger en COO las cadenas peptídicas.

Además, los procesos de síntesis de péptidos inversa N a C según la presente invención pueden comprender una etapa final de purificación de las cadenas peptídicas. Las técnicas utilizadas para la purificación son bien conocidas por el experto en la materia (cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), etc.).

Entre los ejemplos de cadenas peptídicas que pueden obtenerse utilizando el proceso de síntesis de péptidos inversa N a C se incluyen los dipéptidos protegidos en COO H-Aib-Phe-OMe (Aib = ácido amino-isobutírico, Phe = fenilalanina, Me = metilo) y H-Leu-Phe-OMe (Leu = leucina) (véase la parte III.3 de los ejemplos y el siguiente esquema de síntesis 5).

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un proceso de síntesis de péptidos C a N, que comprende las siguientes etapas sucesivas:

(a3) acoplar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención con aminoácidos protegidos en N y protegidos en COO cuyas cadenas laterales presentan un grupo desprotegido seleccionado entre un grupo hidroxilo, un grupo amina y un grupo tiol, a fin de obtener aminoácidos protegidos en N y protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector,

(b3) desproteger en N los aminoácidos protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector a

fin de obtener aminoácidos desprotegidos en N y protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector,

(c3) acoplar los aminoácidos desprotegidos en N y protegidos en COO con aminoácidos protegidos en N, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener péptidos protegidos en N y protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector,

(d3) desproteger en N los péptidos protegidos en COO acoplados obtenidos en la etapa (c3),

(e3) opcionalmente, repetir las etapas (c3) y (d3) tantas veces como sea necesario para obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula (I) cargada con cadenas peptídicas,

(f3) escindir el enlace entre la combinación fase sólida-conector y las cadenas peptídicas a fin de recuperar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) y las cadenas peptídicas.

Tal como se utiliza en la presente invención, el término "grupo protector de N" se refiere a los grupos destinados a proteger un grupo amino frente a reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos. Los grupos protectores de N de uso habitual se describen en Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" (John Wiley & Sons, Nueva York (1981)). Entre los grupos protectores de N se incluyen carbamatos, amidas, derivados de N-alquilo, derivados de aminoacetal, derivados de N-bencilo, derivados de imina, derivados de enamina y derivados de N-heteroátomo. En particular, entre los grupos protectores de N se incluyen formilo, acetilo, benzoilo, pivaloilo, fenilsulfonilo, bencilo, t-butiloxicarbonilo (Boc), benciloxicarbonilo (Cbz), tricloroetoxicarbonilo (Troc), aliloxicarbonilo (Alloc), fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), acetilo y similares.

Preferentemente, el grupo protector de N del aminoácido protegido en N es Fmoc y la etapa de desprotección en N se lleva a cabo con una solución de dimetilformamida/piperidina.

Preferentemente, la etapa de acoplamiento (a3) y/o (c3) se lleva a cabo con activación por hexafluorofosfato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilfosfonio en presencia de diisopropiletilamina en un disolvente, tal como dimetilformamida.

Preferentemente, el proceso de síntesis de péptidos C a N según la presente invención comprende, antes o después de la etapa (f3), otra etapa (g3), que consiste en desproteger las cadenas laterales de aminoácido de las cadenas peptídicas y/o desproteger en COO las cadenas peptídicas. La desprotección en COO de las cadenas peptídicas se puede llevar a cabo mediante saponificación con una solución de LiOH en un disolvente, tal como tetrahidrofurano.

También preferentemente, el proceso de síntesis de péptidos C a N es de tal naturaleza que los aminoácidos protegidos en N y en COO, cuyas cadenas laterales conservan un grupo desprotegido de la etapa (a3), se seleccionan entre el grupo que comprende:

- los aminoácidos treonina, serina y tirosina protegidos en N y protegidos en COO que presentan un grupo hidroxilo,
- los aminoácidos lisina, ornitina, ácido diaminobutírico y ácido diaminopropiónico protegidos en N y protegidos en COO que presentan un grupo amina, y
- la cisteína protegida en N y protegida en COO que presenta un grupo tiol.
- los aminoácidos triptófano y arginina protegidos en N y COO.

El aminoácido protegido en COO es tal como se ha definido anteriormente. Ventajosamente, el grupo protector de COO del aminoácido protegido en COO es un grupo alquilo (C₁-C₆), ventajosamente un grupo metilo.

También ventajosamente, el grupo protector de N del aminoácido protegido en N es Fmoc y la etapa de desprotección en N se lleva a cabo con una solución de dimetilformamida/piperidina.

La etapa de escisión (f3) se puede llevar a cabo en condiciones ácidas, tales como, por ejemplo, con ácido trifluoroacético (TFA), preferentemente en una dosis comprendida entre el 1% y el 100%, más preferentemente entre el 10% y el 100%, o en ácido acético (AcOH), preferentemente en una dosis comprendida entre el 10% y el 100%.

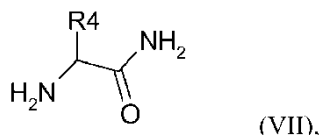
Además, los procesos de síntesis de péptidos C a N según la presente invención pueden comprender una etapa final de purificación de las cadenas peptídicas, siendo bien conocidas por el experto en la materia las técnicas utilizadas para dicha purificación.

Entre los ejemplos de cadenas peptídicas que pueden obtenerse mediante el proceso de síntesis de péptidos C a N son los dipéptidos protegidos en N y protegidos en COO Fmoc-Ala-Ser-OMe (Ala = alanina, Ser = serina), Fmoc-

Phe-Ser-OMe, Fmoc-Ala-Tyr-OMe (Tyr = tirosina) y Fmoc-Phe-Tyr-OMe (véase la parte III.5 de los ejemplos y el siguiente esquema de síntesis 7).

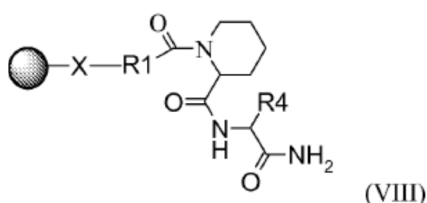
En otro aspecto, la presente invención se refiere a un proceso de síntesis de péptidos retroinverso, que comprende las siguientes etapas sucesivas:

(a4) acoplar un compuesto de fórmula



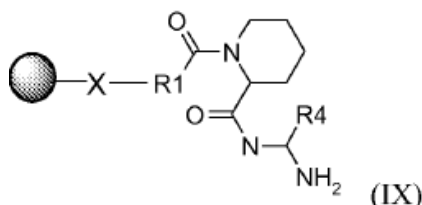
en el que R_4 representa la cadena lateral de un aminoácido, en la que las funciones reactivas están protegidas,

con la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la presente invención, a fin de obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula



en la que X , R_1 y R_4 son tal como se han definido anteriormente,

(b4) tratar la combinación fase sólida-conector de fórmula (VIII) obtenida en la etapa (a4), a fin de obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula



en la que X , R_1 y R_4 son tal como se han definido anteriormente,

(c4) acoplar la combinación fase sólida-conector de fórmula (IX) obtenida en la etapa (b4) con aminoácidos protegidos en N, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener aminoácidos protegidos en N acoplados a la combinación fase sólida-conector de fórmula (IX),

(d4) opcionalmente, desproteger en N los aminoácidos acoplados,

(e4) opcionalmente, acoplar los aminoácidos desprotegidos en N acoplados de la etapa (d4) con aminoácidos protegidos en N, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener un péptido protegido en N acoplado a la combinación fase sólida-conector de fórmula (IX),

(f4) opcionalmente, repetir las etapas (d4) y (e4) tantas veces como sea necesario para obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula (I) cargada con cadenas peptídicas retroinverso,

(g4) escindir el enlace entre la combinación fase sólida-conector y las cadenas peptídicas a fin de recuperar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) y las cadenas peptídicas.

El grupo protector de N es tal como se ha definido anteriormente. Ventajosamente, el grupo protector de N del aminoácido protegido en N es Fmoc y la etapa de desprotección en N se lleva a cabo con una solución de

dimetilformamida/piperidina.

Preferentemente, la etapa de acoplamiento (a4) y/o (c4) y/o (e4) se lleva a cabo con activación por hexafluorofosfato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilfosfonio en presencia de diisopropiletilamina en un disolvente, tal como dimetilformamida.

Ventajosamente, la etapa (b4) se lleva a cabo por tratamiento con bistrifluoroacetoxi yodobenceno y piridina en una solución, tal como una solución en dimetilformamida/agua.

También ventajosamente, el proceso de síntesis de péptidos retroinverso según la presente invención comprende, antes o después de la etapa (g4), otra etapa (h4), que consiste en desproteger las cadenas laterales de aminoácido de las cadenas peptídicas y/o desproteger en N las cadenas peptídicas.

La etapa de escisión (g4) se puede llevar a cabo en condiciones ácidas, tales como, por ejemplo, con ácido trifluoroacético (TFA), preferentemente en una dosis comprendida entre el 1% y el 100%, más preferentemente entre el 10% y el 100%, o en ácido acético (AcOH), preferentemente en una dosis comprendida entre el 10% y el 100%.

Además, los procesos de síntesis de péptidos retroinverso según la presente invención pueden comprender una etapa final de purificación de las cadenas peptídicas.

Un ejemplo de una cadena peptídica retroinverso, que puede obtenerse mediante el proceso de síntesis de péptidos retroinverso, es el pseudodipéptido protegido en N Fmoc-Phe-g-DLeu-H (véase la parte III.4 del siguiente esquema de síntesis 6).

La presente invención se describe adicionalmente en los siguientes ejemplos no limitativos y figuras.

Figuras

Figura 1: cinética de la escisión del enlace amida, resina 2

Figura 2: cinética de la escisión del enlace éster, resina 14 (Fmoc-Ser-OMe)

Figura 3: cinética de la escisión del enlace éster, resina 18 (Fmoc-Tyr-OMe)

Ejemplos

En la presente invención, se utilizan las siguientes abreviaturas: AM-PS, aminometilo-poliestireno; BAL, Backbone Amide Linker; BOP, hexafluorofosfato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilfosfonio; BTIB, bistrifluoroacetoxi yodobenceno; DCM, diclorometano; DIC, diisopropilcarbodiimida; DCC, dicitclohexilcarbodiimida; EDC, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida; DIEA, diisopropiletilamina; DMF, dimetilformamida; PyBop, hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio; PyBrop, hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidinofosfonio; HBTU, hexafluorofosfato de O-benzotriazol-N,N,N',N'-tetrametil-uronio; HATU, hexafluorofosfato de N-óxido de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo-[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanaminio; HMBA, conector hidroximetil benzamido; HOBT, hidroxibenzotriazol; HOAt, 1-hidroxi-7-azabenzotriazol, HPLC, cromatografía líquida de alta resolución; LC/MS, tándem cromatografía líquida/espectroscopia de masas; pip, conector pipecólico; PS, poliestireno; SPPS, síntesis de péptidos en fase sólida; TEA, trietilamina; NMM, N-metilmorfolina; TFA, ácido trifluoroacético; THF, tetrahidrofurano; TIS, triisopropilsilano; TMP, 2,4,6-trimetilpiridina; TNBS, ácido trinitrobenzenosulfónico. Otras abreviaturas utilizadas son las recomendadas por la comisión IUPAC-IUB (Eur. J. Biochem. 1984, 138, 9-37).

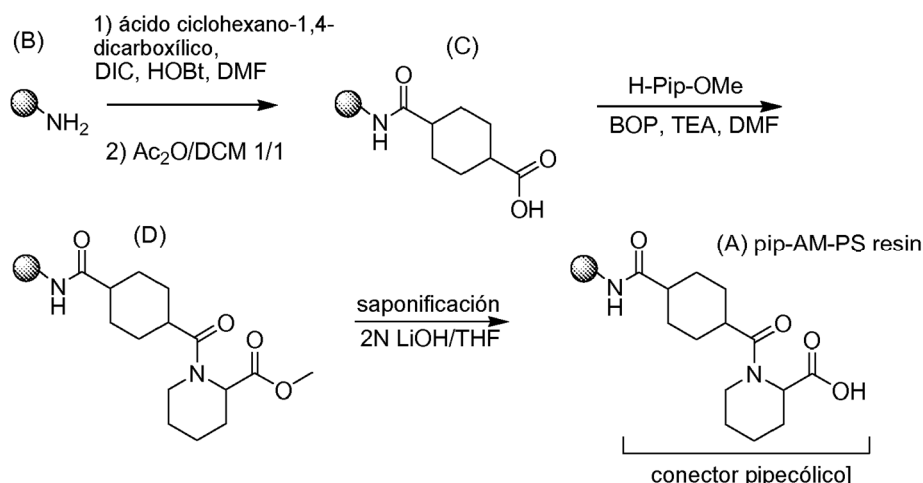
Se adquirió una resina de aminometilo-PS disponible en el mercado reticulada con un 1% de DVB, malla 100-200, carga 1,3 mmol/g, a través de Senn Chemicals. Los reactivos de activación se obtuvieron a través de Senn, otros reactivos a través de Acros y Lancaster. Los derivados de aminoácidos se obtuvieron a través de Iris Biotech.

Todas las etapas de preparación del conector se controlaron mediante pruebas colorimétricas. Además, se registraron espectros de IR para las perlas de resina.

En los siguientes ejemplos, el conector pipecólico (pip) utilizado contiene R_1 = ciclohexilo.

I. Preparación del soporte sólido para el conector pipecólico

La preparación del soporte sólido para el conector pipecólico es tal como se describe en el siguiente esquema de síntesis 1:



Esquema de síntesis 1

- 5 Se utilizó ácido ciclohexano-1,4-dicarboxílico como espaciador entre la resina de aminometilo-poliestireno y un ácido piperídico. El ácido ciclohexano-1,4-dicarboxílico se acopló a la resina de aminometilo-poliestireno (B) (carga teórica: 1,2 mmol/g) utilizando diisopropilcarbodiimida (DIC) e hidroxibenzotriazol (HOBT) como mezcla de acoplamiento en dimetilformamida (DMF) durante 12 h. La eficacia de la acilación se controló mediante las pruebas de Kaiser y TNBS. Tras proteger las funciones amino que no habían reaccionado con anhídrido acético, se ancló el éster metílico del ácido piperídico al soporte sólido (C). La reacción se llevó a cabo con acoplamiento de amida promovido por BOP en presencia de trietilamina (TEA) en DMF durante 2 h.

La acilación se repitió otra vez durante una hora y la falta de función ácido carboxílico libre se confirmó mediante el ensayo de verde de malaquita (Attardi y otros, 2000). A continuación, la resina (D) obtenida se hidrolizó utilizando el protocolo previamente optimizado en el laboratorio (Cantel y otros, 2003) para obtener la resina piperídica de aminometilo-poliestireno, es decir, pip-AM-PS (A). La hidrólisis del éster metílico sobre soporte sólido comprende el tratamiento de la resina con una solución 2 N de LiOH en tetrahidrofurano (THF) (Cantel y otros, 2004).

La presencia del nuevo conector unido a la resina se verificó adicionalmente mediante espectrometría de IR (espectros no mostrados). El primer ensayo se llevó a cabo con resina PS aminometilada convencional (roja) y después con resina de PS derivada con conector piperídico (negra). El espectro de la resina de partida comprendía picos procedentes principalmente de los picos de poliestireno, que aparecen entre 3.058 cm⁻¹ y 2.857 cm⁻¹, que representan los modos de tensión de CH, CH₂. El grupo amino dio lugar a la banda de aproximadamente 3.400-3.327 cm⁻¹, procedente de la función amina primaria libre. Aunque este último intervalo de banda era característico de grupos hidroxilo libres de las funciones carboxílicas del ácido piperídico, en los espectros de la resina piperídica la banda de aproximadamente 1.717-1.700 cm⁻¹ se atribuyó al grupo carbonilo de la función ácido carboxílico. Por otra parte, los grupos carbonilo procedentes de los grupos amida se pudieron observar en 1.641 cm⁻¹. Curiosamente, en los espectros de la resina de PS funcionalizada con conector piperídico, se observó una desaparición de la banda de NH en 1.602 cm⁻¹.

Unión de ácido ciclohexano-1,4-dicarboxílico

Se disolvieron ácido ciclohexano-1,4-dicarboxílico (30,0 mmol, 5 eq) y HOBT (30,0 mmol, 5 eq) en 20 ml de DMF, a continuación se añadió DIC (30,0 mmol, 5 eq) y la mezcla se agitó suavemente durante 10 min. A continuación, la mezcla se incorporó a 5 g de resina de aminometilo-PS ((B), que corresponde al soporte sólido funcionalizado de fórmula (V), en el que preX es NH₂) (1,3 mmol/g) preinchada en DCM, y la mezcla de reacción se agitó suavemente durante 6 horas. Tras la filtración, la resina se lavó con DMF, MeOH y DCM, y se secó a temperatura ambiente al vacío. La eficacia de acoplamiento se verificó mediante las pruebas de Kaiser y TNBS. Por último, la resina se trató con una mezcla de Ac₂O/DCM (50/50 v/v) y se lavó tres veces con DCM, obteniéndose la resina ((C), correspondiente al compuesto de fórmula (III), en el que X = -NH-CO- y R₁ = ciclohexilo).

Unión de éster metílico del ácido piperídico

Se acopló el clorhidrato del éster metílico del ácido piperídico (2,33 g, 2 eq) a la resina utilizando BOP (12 mmol, 2 eq) y HOBT (12 mmol, 2 eq) como agentes de activación en presencia de DIEA (30 mmol, 5 eq). La mezcla de reacción se dejó reaccionar durante 2 horas y el proceso se repitió otra vez. Finalmente, la resina se lavó con DMF, MeOH y DCM, obteniéndose la resina ((D), correspondiente al compuesto de fórmula (II), en el que X = -NH-CO-, R₁ = ciclohexilo y R₃ = metilo).

Hidrólisis del éster metílico del ácido pipecólico

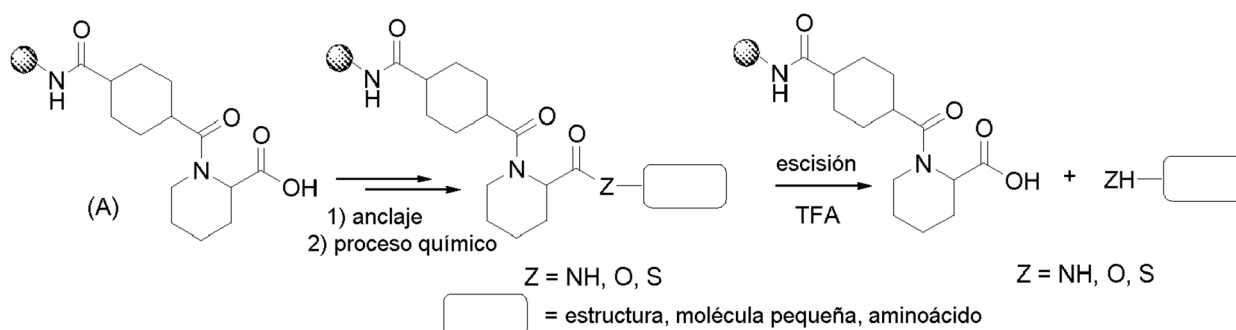
El éster metílico del derivado pipecólico unido a la resina (D) se hidrolizó en una mezcla de solución acuosa 2 M de hidróxido de litio y tetrahidrofurano 30/70 (v/v) durante 12 horas a temperatura ambiente. La resina (D) se lavó con H₂O, MeOH, DCM, obteniéndose la resina AM-PS pipecólica ((A), correspondiente al compuesto de fórmula (I), en el que X = -NH-CO- y R₁ = ciclohexilo), con una carga calculada de 0,91 mmol/g.

II. Ejemplo de hidrólisis de éster metílico “sobre resina”

El éster metílico de aminoácido (1 g) unido a la resina pip-AM-PS se trató con 5 ml de una mezcla de solución acuosa 2 M de LiOH y tetrahidrofurano (30/70, v/v). El reactor se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas y la resina se lavó con H₂O (3x), THF (3x), MeOH (3x), DCM (2x), y finalmente se secó al vacío.

III. Estudios de aplicación

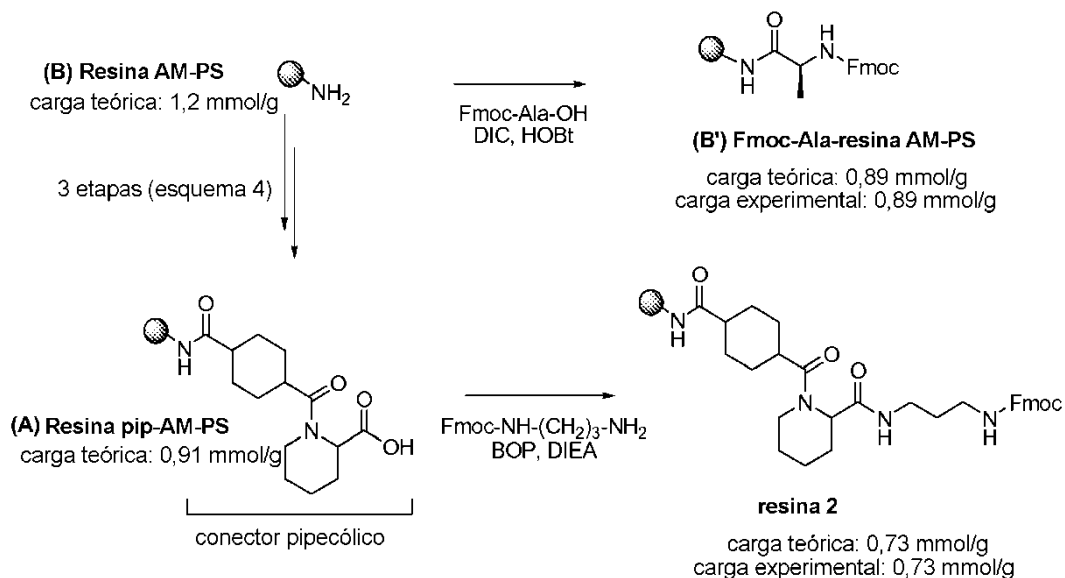
El siguiente esquema de síntesis 2 describe la utilización general del soporte sólido de conector pipecólico (A), en el que el soporte sólido es un soporte de poliestireno, X es -NH-CO- y R₁ es ciclohexilo:



Esquema de síntesis 2

III.1 Determinación de carga inicial

Antes de llevar a cabo experimentos de carga con la resina pip-AM-PS (A), los presentes inventores determinaron la carga experimental de la resina de aminometilo utilizada para la preparación del conector pipecólico:



Esquema de síntesis 3

Fmoc-Ala-OH se acopló fácilmente a la resina comercial de aminometilo-poliestireno (resina AM-PS (B), carga teórica = 1,2 mmol/g). La reacción se llevó a cabo por doble acoplamiento con diisopropilcarbodiimida (DIC) e hidroxibenzotriazol (HOBt) en DMF. La eficacia de la acilación se confirmó mediante las pruebas de Kaiser negativa y TNBS. La carga teórica máxima de Fmoc-Ala-resina AM-PS se calculó a partir del incremento de masa teórico

inducido por acoplamiento de Fmoc-Ala-OH, de acuerdo con la ecuación: $1,2 / [1 + (1,2 \times 0,294)] = 0,89 \text{ mmol/g}$. La carga experimental se determinó mediante la media de tres titulaciones sucesivas de UV del dibenzofulveno liberado tras la escisión de Fmoc en Fmoc-Ala-resina AM-PS (incremento de masa = 294 g/mol), según el protocolo estándar para la determinación de la carga de resinas. Este valor experimental es igual al valor teórico de 0,89 mmol/g (tabla 1).

Se llevó a cabo el mismo tipo de experimento para determinar la carga de resina pip-AM-PS (A) preparada en la resina AM-PS (B) según el protocolo descrito en el esquema de síntesis 1 (parte I de los ejemplos). Se acopló Fmoc-1-amino-3-aminopropano a la resina pipecólica (A) mediante activación con BOP en presencia de DIEA en DMF durante dos horas. La eficacia de la reacción de acoplamiento se verificó mediante la prueba colorimétrica de verde de malaquita (Attardi y otros, 2000), comprobando la desaparición de las funciones ácido carboxílico en las perlas de resina. La carga teórica de la resina 2, incluyendo el peso molecular del conector pipecólico y Fmoc-1-amino-3-aminopropano (incremento de masa = 544 g/mol), se calculó según la ecuación: $1,2 / [1 + (1,2 \times 0,544)] = 0,73 \text{ mmol/g}$. Se determinó la carga en la resina 2 por titulación de Fmoc, obteniéndose un valor de 0,73 mmol/g, lo que indica que la síntesis del conector y el anclaje de amina fueron cuantitativos.

De acuerdo con los experimentos de determinación de carga, la preparación del conector pipecólico es cuantitativa. Es posible calcular la carga de la resina pip-AM-PS (A) según el incremento de masa del conector pipecólico (266 g/mol) a partir de la resina AM-PS (1,2 mmol/g) $1,2 / [1 + (1,2 \times 0,266)] = 0,91 \text{ mmol/g}$.

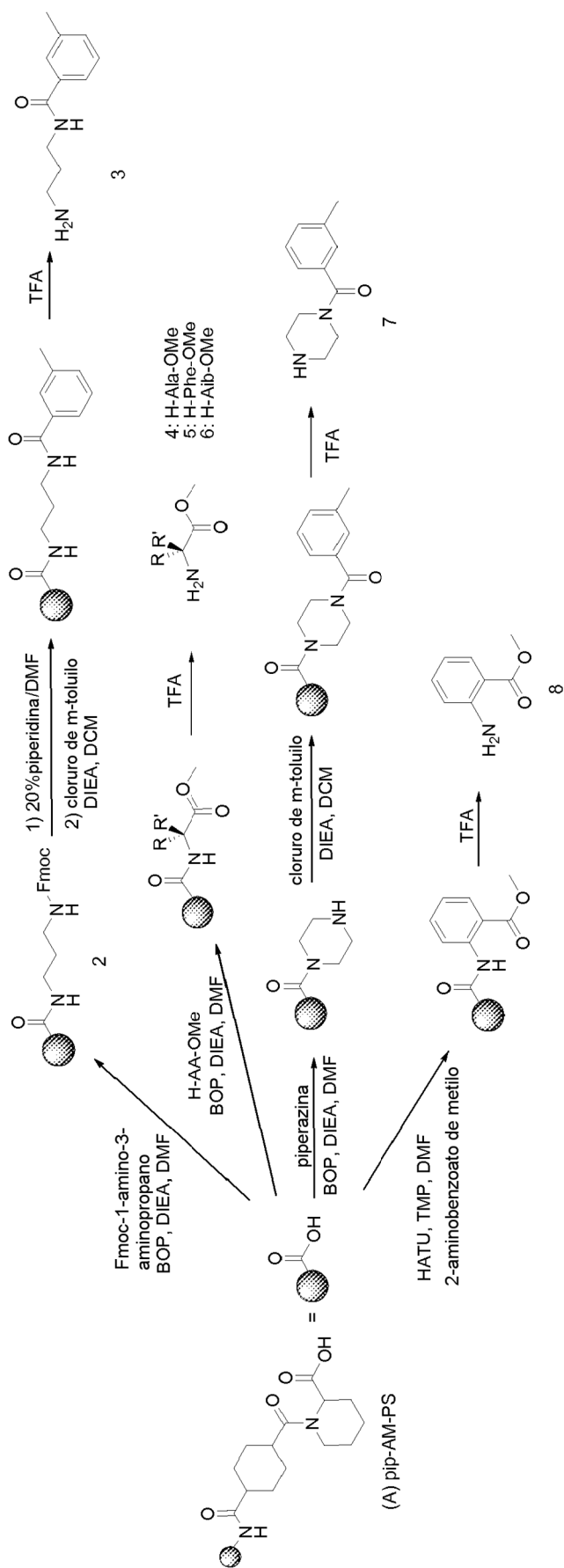
Tabla 1. Determinación de carga (titulación de Fmoc)

Resina	Carga exp. (titulación de Fmoc) (mmol/g)	Incremento de masa ^a (mg/mol)	Carga teórica (mmol/g) ^b
Resina AM-PS (D)	NA	NA	1,2
Fmoc-Ala-resina AM-PS	0,89	0,294	0,89
Resina 2	0,73	0,544	0,73
Resina pip-AM-PS (A)	NA	0,266	0,91

^a Calculado a partir de la resina AM-PS, carga 1,2 mmol/g

^b Calculada según la ecuación: $1,2 / [1 + (1,2 \times \text{incremento de masa})]$

III.2 Anclaje de amina



Esquema de síntesis 4: Anclaje de aminas modelo en conector pipecólico

Dado que el conector pipecólico se diseñó en primer lugar para anclar diversas unidades estructurales de tipo amina o alcohol mediante la creación de enlaces amida o éster, respectivamente, se llevaron a cabo diversos ensayos para comprobar su versatilidad. En primer lugar, se llevaron a cabo intentos de anclar varias aminas modelo al soporte y modificarlas posteriormente en condiciones experimentales estables para el conector utilizando varios reactivos de acoplamiento. Se eligió el Fmoc-1-amino-3-aminopropano como amina primaria modelo, la piperazina como amina secundaria modelo y el 2-aminobenzoato de metilo como amina aromática modelo. Además, se utilizaron también ésteres metílicos de alanina, fenilalanina y ácido aminoisobutírico para demostrar la utilidad del conector pipecólico en el campo de la química de los péptidos. Pureza de los compuestos liberados tras 90 minutos: se determinó la escisión de TFA mediante la superficie relativa de los picos integrados del análisis por HPLC (suma de absorbancia entre 200 nm y 270 nm). Los rendimientos se determinaron pesando los productos liberados de la resina (tabla 2).

Ejemplo 1 - unión de amina primaria (h-phe-ome) a la resina pip-am-ps y recuperación de dicha amina primaria

La resina AM-PS pipecólica (A) (200 mg, 0,182 mmol, 0,91 mmol/g) se hinchó en 5,4 ml de solución de acoplamiento en DMF que contenía BOP (239 mg, 100 mM, 540 μ mol, 3 eq), DIEA (140 mg, 188 μ l, 200 mM, 1,08 mmol, 6 eq) y H-Phe-OMe (97 mg, 100 mM, 540 μ mol, 3 eq). La resina se agitó suavemente durante 2 horas y se lavó con DMF (3x), MeOH, DCM (2x). La resina se escindió con TFA durante 90 minutos con agitación suave. La resina se filtró y la solución de TFA se evaporó bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en solución de acetonitrilo/agua 1/1 y se liofilizó. Tras la liofilización, se obtuvieron 25,6 mg (rendimiento 48%, pureza 98%) del compuesto 5 como sal de TFA y se sometieron a LC/MS y a análisis por HPLC (RT = 0,70 min, MS ESI+ [M+H]⁺ m/z = 180,3).

Ejemplo 2 - unión de amina aromática (2-aminobenzoato de metilo) a la resina pip-am-ps y recuperación de dicha amina aromática

La resina AM-PS pipecólica (A) (200 mg, 0,182 mmol, 0,91 mmol/g) se hinchó en 5,4 ml de solución de acoplamiento en DMF que contenía HATU (276 mg, 135 mM, 730 μ mol, 4 eq), TMP (177 mg, 194 μ l, 200 mM, 1,46 mmol, 8 eq) y 2-aminobenzoato de metilo (81 mg, 69 μ l, 135 mM, 730 μ mol, 4 eq).

La resina se agitó suavemente durante 2 horas y se lavó con DMF (3x), MeOH, DCM (2x). La resina se escindió con TFA durante 90 minutos con agitación suave. La resina se filtró y la solución de TFA se evaporó bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en solución de acetonitrilo/agua 1/1 y se liofilizó. Tras la liofilización, se obtuvieron 22,6 mg (rendimiento 47%, pureza 97%) del compuesto 8 como sal de TFA y se sometieron a LC/MS y a análisis por HPLC (RT = 0,72 min, MS ESI+ [M+H]⁺ m/z = 152,3).

Ejemplo 3 - preparación del compuesto 7, piperazin-1-il m-tolil metanona

La resina AM-PS pipecólica (A) (100 mg, 91 μ mol, 0,91 mmol/g) se hinchó en 2,7 ml de solución de acoplamiento en DMF que contenía BOP (119 mg, 100 mM, 270 μ mol, 3 eq), DIEA (70 mg, 94 μ l, 200 mM, 540 μ mol, 6 eq) y piperazina (21 μ l, 23 mg, 100 mM, 270 μ mol, 3 eq). La resina se agitó suavemente durante 2 horas y se lavó con DMF (3x), MeOH, DCM (2x), obteniéndose piperazina fijada sobre soporte sólido. A continuación, la resina se agitó suavemente durante 2 horas en 2,7 ml de solución en DCM que contenía cloruro de m-toluoilo (56 mg, 48 μ l, 135 mM, 365 μ mol, 4 eq) y DIEA (127 μ l, 94 mg, 270 mM, 730 μ mol, 8 eq). La resina se lavó con DMF (3x), MeOH, DCM (2x) y se escindió con TFA durante 90 minutos con agitación suave. La resina se filtró y la solución de TFA se concentró bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en solución de acetonitrilo/agua 1/1 y se liofilizó. Tras la liofilización, se obtuvieron 11,8 mg (rendimiento 41%, pureza 98%) del compuesto 7 como sal de TFA y se sometieron a LC/MS y a análisis por HPLC (RT = 0,54 min, MS ESI+ [M+H]⁺ m/z = 205,1).

Tabla 2. Resultados de escisión del conector pipecólico

Cpds	R _t	Pureza % ^a	[M+H] ⁺ medido	PM calc.	Rendimiento ^b
3	0,52	99%	193,4	192,1	66,00
4	0,34 ^c	99% ^c	104,2	103,1	38,00
5	0,70	98%	180,3	179,1	48,00
6	0,36 ^c	99% ^c	118,3	117,1	34,00
7	0,54	98%	205,1	204,1	41,00
8	0,72	97%	152,3	151,1	47,00
9	0,70	95%	265,1	264,1	41,00
10	0,89/0,98 ^d	96%	293,3	292,2	46,00
11	1,52	92%	472,6	471,3	46,00
13	1,41	98%	356,2	355,1	19,00
15	1,35	97%	342,0	341,1	30,00
16	1,26	96%	412,9	412,2	19,00
17	1,48/1,56 ^d	86%	489,6	488,2	17,00
19	1,55	98%	418,6	417,2	25,90

20	1,47	97%	489,6	488,2	14,00
21	1,69	94%	565,6	564,2	13,00

^a El porcentaje de pureza se calcula mediante la integración del área de pico durante el análisis por HPLC de los compuestos escindidos en la suma de longitudes de onda entre 200 nm y 270 nm.

^b El rendimiento se calcula por ponderación de los productos escindidos con respecto a la carga experimental determinada sobre la resina (A) (0,91 mmol/g).

^c La detección por UV estándar es imposible para este compuesto. El porcentaje de pureza y el tiempo de retención se calculan mediante la integración del área de pico del cromatograma TIC durante el análisis por LC/MS.

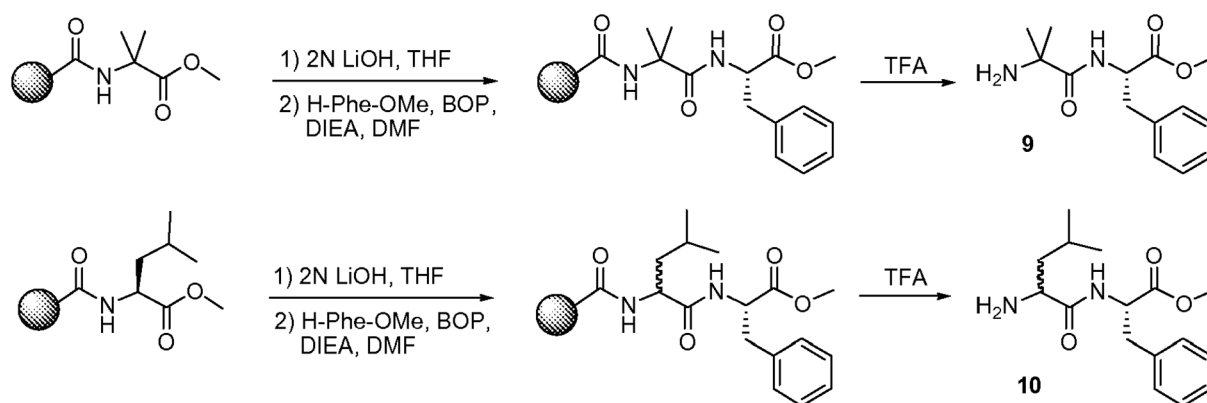
^d Se observaron dos diastereoisómeros mediante análisis por HPLC.

Se acoplaron fácilmente al soporte aminas secundarias y primarias, incluidos ésteres metílicos de aminoácidos, mediante activación por BOP en presencia de DIEA en DMF, con unos rendimientos de moderados a buenos. La pureza de los compuestos liberados fue bastante alta. En el caso de la amina aromática primaria modelo, el 2-aminobenzoato de metilo, se obtuvieron rendimientos moderados con dicha activación (rendimiento del 12%). Los presentes inventores investigan otros reactivos de acoplamiento. Se puso de manifiesto que el método más eficiente era la activación por hexafluorofosfato de N-óxido de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo-[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanaminio (HATU) en presencia de 2,4,6-trimetilpiridina (TMP) en dimetilformamida, con el que el rendimiento mejora hasta el 51% (pureza del 99%).

Debe apreciarse que, mediante la utilización del conector pipecólico, el voluminoso éster metílico del ácido α -amino-isobutírico (H-Aib-OMe) se unió con éxito al soporte con una simple activación por BOP (compuesto 6), con un rendimiento del 34%. Más en general, la utilización de conector pipecólico mejoró significativamente el anclaje a la resina de las aminas en comparación con los conectores de tritilo. Como ejemplo, a partir de resina de cloruro de 2-clorotritilo-PS (1,6 mmol/g) (Barlos y otros, 1988; Bernhardt y otros, 1997), la carga de la amina primaria de la cadena lateral de aminoácidos (Orn, Lys) fue menor de 0,3 mmol/g.

III.3 Aplicación a la síntesis de péptidos inversa N a C

El siguiente esquema de síntesis 5 describe la SPPS inversa N a C sobre soporte sólido pipecólico:



Esquema de síntesis 5

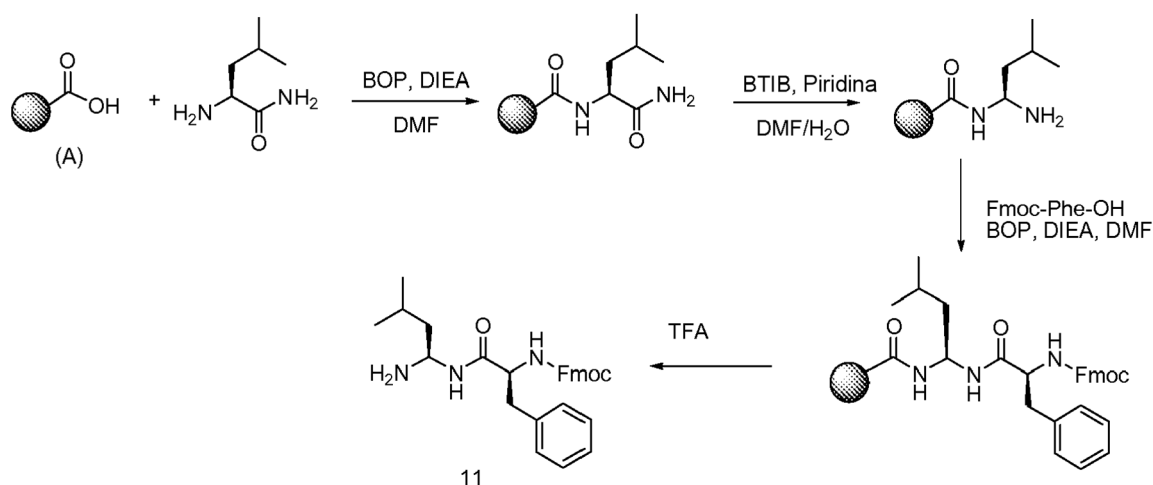
Los presentes inventores han investigado la posibilidad de aplicación del conector pipecólico a la síntesis de péptidos inversa N a C en fase sólida. Para llevar a cabo este enfoque, el conector pipecólico debe ser estable durante la eliminación de la protección del extremo carboxiterminal. Para comprobar este importante aspecto, se sometieron a saponificación ésteres metílicos de Aib y Leu con LiOH 2N en THF y a continuación se acoplaron a H-Phe-OMe utilizando el protocolo de activación estándar por BOP/DIEA descrito anteriormente. De forma rutinaria, la eficacia de las reacciones de acoplamiento se verificó aplicando la prueba colorimétrica de verde de malaquita.

Los dipéptidos 9 y 10, respectivamente H-Aib-Phe-OMe y H-Leu-Phe-OMe, se obtuvieron con buenos rendimientos y purezas tras el tratamiento con TFA durante 90 minutos (tabla 2). Como era de esperar, el alargamiento de la cadena de aminoácidos del extremo N al extremo C provocó la pérdida de la integridad quiral del dipéptido 10. De hecho, el residuo de leucina unido al soporte se epimerizó fácilmente por la formación de iones oxazolonio a través del ataque del oxígeno del enlace conector pipecólico-amina sobre la función de ácido carboxílico activada. Así, en el caso del acoplamiento de la leucina enlazada a resina a H-Phe-OMe mediante activación por BOP/DIEA, había tenido lugar una epimerización total (50/50), tal como muestra el análisis por HPLC. Cabe señalar que el fenómeno

de epimerización durante la activación de la SPPS inversa ha sido investigado anteriormente por otros autores. Se puso de manifiesto que el protocolo de acoplamiento y los reactivos de acoplamiento afectan al índice de epimerización. Aunque el propósito del presente estudio no era determinar un método de no racemización, los presentes inventores utilizaron HATU en presencia de TMP en DMF, condiciones que ya habían sido descritas para minimizar la racemización (Gutheil, W. G.; Xu, Q., en: PCT Int. Appl.; (The Curators of the University of Missouri, USA). Wo, 2002, p 30 pp ; Johansson, A.; Akerblom, E.; Ersmark, K.; Lindeberg, G.; Hallberg, A. Journal of Combinatorial Chemistry 2000, 2, 496-507). En este caso, el índice de epimerización era menor del 10% según el análisis por HPLC del dipéptido H-Leu-Phe-OMe.

III.4 Química de pseudopéptidos: síntesis de derivados diamino gem sobre soporte sólido

El siguiente esquema de síntesis 6 describe la síntesis de Fmoc-Phe-g-DLeu-H utilizando el soporte sólido pipecólico:



Esquema de síntesis 6

La estrategia de conector pipecólico se aplicó también a la síntesis en fase sólida de derivados diamino gem según el concepto general, que comprende una transposición de Hoffman. La adaptación de esta estrategia a la química sobre soporte sólido tiene mucho interés, ya que permite sintetizar péptidos retroinverso o retro de una manera sencilla, evitando la tediosa preparación de derivados diamino gem inestables en solución (Cantel y otros, 2003). Con este propósito, los presentes inventores decidieron sintetizar el pseudodipéptido 11, Fmoc-Phe-g-DLeu-H.

H-Leu-NH₂ se acopló al conector pipecólico mediante activación estándar por BOP/DIEA. El tratamiento con BTIB (bistrifluoroacetoxi yodobenceno) y piridina en solución de DMF/agua dio lugar al derivado gem de diaminoácido de leucina anclado al soporte sólido a través de un enlace amida. A continuación, el acoplamiento con Fmoc-Phe-OH dio el pseudodipéptido anclado al soporte sólido. La escisión mediada por TFA liberó el pseudodipéptido 11 (Fmoc-Phe-g-DLeu-H) con un rendimiento del 46% y una pureza del 92%. Esta estrategia inaugura una nueva vía sintética de péptidos retroinverso e inversos, que facilita enormemente la generación y manejo sobre soporte de los diaminoácidos gem. Se investigó la misma secuencia para generar Fmoc-Phe-g-Aib-H. Se observó únicamente un 50% de pureza debido a la dificultad de llevar a cabo una transposición de Hoffman en los aminoácidos impedidos, tales como Aib.

Ejemplo 4 - preparación del derivado diamino gem 11, fmoc-phe-g-dleu-h, en resina pip-am-ps.

La resina AM-PS pipecólica (A) (250 mg, 225 µmol, 0,91 mmol/g) se hinchó en 6,75 ml de solución de acoplamiento en DMF que contenía BOP (298 mg, 100 mM, 675 µmol, 3 eq), DIEA (236 mg, 317 µl, 200 mM, 1,82 mmol, 6 eq) y H-Leu-NH₂ (88 mg, 100 mM, 675 µmol, 3 eq). La resina se agitó suavemente durante 2 horas y a continuación se lavó con DMF (3x), MeOH, DCM (2x). A continuación, la resina se hinchó en 5 ml de solución en DMF/H₂O (80/20, v/v) que contenía piridina (147 µl, 144 mg, 365 mM, 1,82 mmol, 8,1 eq) y BTIB (157 mg, 73 mM, 365 µmol, 1,62 eq) y se agitó durante 1 h. A continuación, la resina se lavó con DMF (3x) y DCM (2x). La resina obtenida se hinchó en 6 ml de solución de acoplamiento en DMF que contenía BOP (398 mg, 150 mM, 0,9 mmol, 3 eq), DIEA (233 mg, 314 µl, 300 mM, 1,8 mmol, 6 eq) y Fmoc-Phe-OH (349 mg, 150 mM, 0,9 mmol, 3 eq). La resina se agitó suavemente durante 2 horas y a continuación se lavó con DMF (3x), MeOH y DCM (2x). Por último, la resina se escindió con TFA durante 90 minutos con agitación suave. La resina se filtró y la solución de TFA se concentró bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en solución de acetonitrilo/agua 1/1 y se liofilizó. Tras la liofilización, se obtuvieron 60 mg (rendimiento 46%, pureza 92%) del compuesto 11 como sal de TFA y se sometieron a LC/MS y análisis por HPLC (RT = 1,52 min, MS ESI+ [M+H]⁺ m/z = 472,6).

III.5 Anclaje a través de alcohol

Teniendo en cuenta la sencilla secuencia de reacción llevada a cabo para la unión de las unidades estructurales de amina al conector pipecólico, los presentes inventores indicaron que podían aplicarse condiciones de reacción similares para la introducción de un derivado alcohólico a través de un enlace éster. Para probar este principio, eligieron cadenas laterales de aminoácidos para llevar a cabo la unión al conector. En estos ensayos se utilizaron la función de alcohol primario de la cadena lateral de serina, de alcohol secundario de la treonina y la función fenólica de la tirosina.

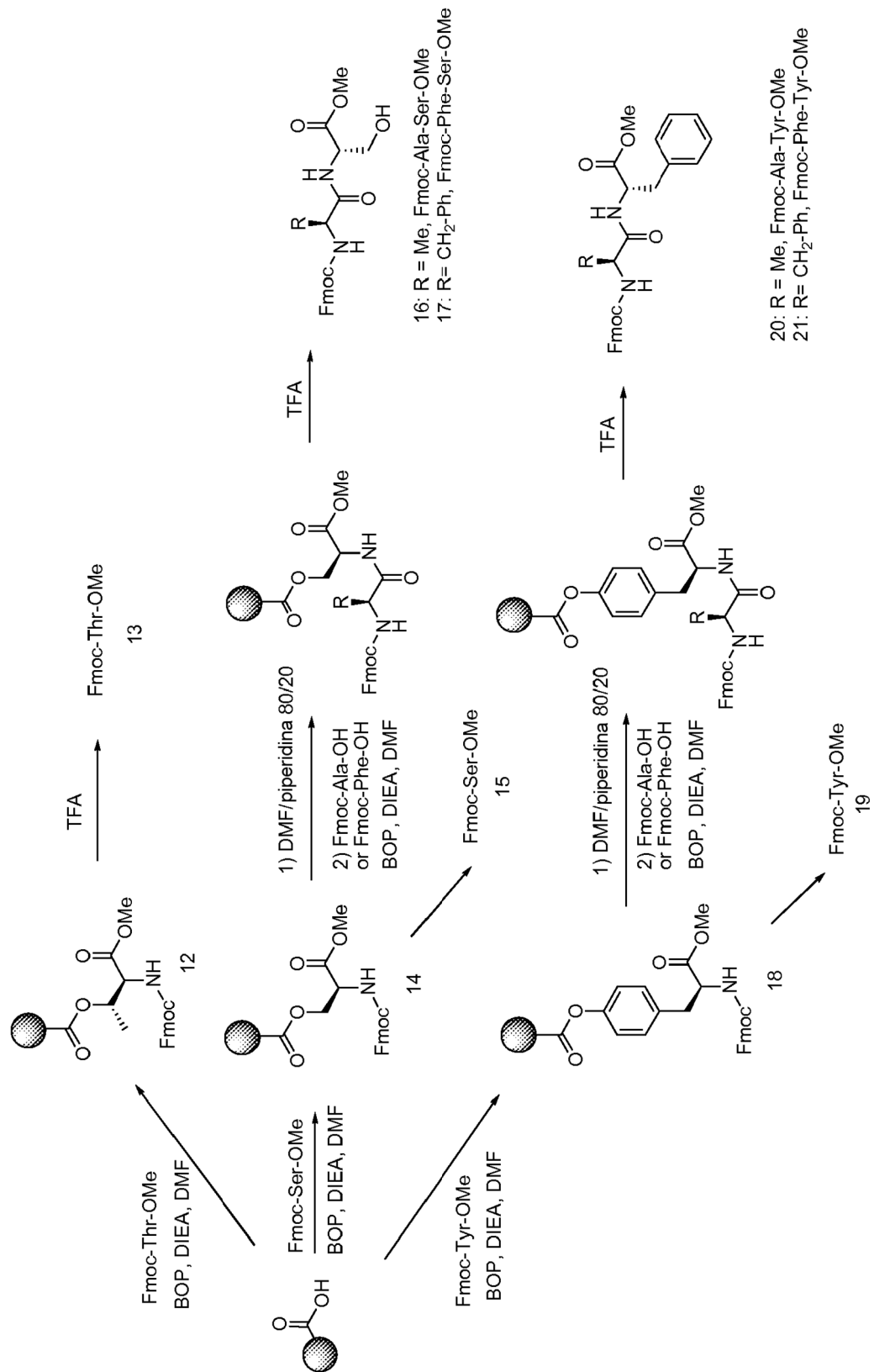
Tabla 3. Determinación de la carga tras el anclaje del alcohol de la cadena lateral (titulación de Fmoc)

Resina	Carga exp. (titulación de Fmoc) (mmol/g)	Incremento de masa ^a (mg/mol)	Carga teórica (mmol/g) ^b
12 (cadena lateral de Thr)	0,30	0,604	0,69
14 (cadena lateral de Ser)	0,32	0,590	0,70
18 (cadena lateral de Tyr)	0,43	0,666	0,67

^a Calculado a partir de resina AM-PS, carga 1,2 mmol/g

^b Calculada mediante la ecuación: $1,2 / [1 + (1,2 \times \text{incremento de masa})]$

Aparte de demostrar la posibilidad de inmovilizar el alcohol sobre el conector pipecólico, esta estrategia de anclaje de la cadena lateral también puede tener interés para generar péptidos cíclicos o producir péptidos modificados en su extremo C utilizando las propiedades químicas de Fmoc o Alloc. Se llevó a cabo un ciclo de etapa de desprotección/acoplamiento en aminoácidos injertados en cadena lateral para comprobar este enfoque. El siguiente esquema de síntesis 7 describe el anclaje de alcoholes modelo sobre un soporte sólido de conector pipecólico: cadenas laterales de Thr, Ser y Tyr.



Esquema de síntesis 7

El enlace éster entre el conector pipecólico y la cadena lateral de los aminoácidos se formó mediante acoplamiento con BOP/DIEA durante 90 minutos. La carga se determinó por titulación de Fmoc en alícuotas de las resinas 12, 14 y 18 para resinas funcionalizadas con Thr, Ser y Tyr, respectivamente (tabla 3). Sorprendentemente, la utilización de la activación por DIC/DMAP no dio mejor resultado que la esterificación mediada por BOP/DIEA. En términos generales, según los resultados de la titulación de Fmoc, la inmovilización de alcohol fue menos eficiente que la carga de amina, incluso cuando se observó una prueba de malaquita negativa. En particular, con las resinas 12 y 14, obtenidas mediante la esterificación de cadenas laterales de Fmoc-Thr-OMe y Fmoc-Ser-OMe, las cargas experimentales fueron únicamente de 0,30 mmol/g y 0,32 mmol/g (es decir, un 43% y un 44% de rendimiento con respecto a la carga máxima teórica de 0,70 mmol/g). Este resultado debe ponerse en perspectiva teniendo en cuenta la dificultad de cargar alcoholes primarios en resinas a base de tritilo, que dan rendimientos experimentales de carga menores del 20% con respecto a la carga máxima teórica (Barlos y otros, 1988).

Tras la determinación de la carga, se decidió comprobar la posibilidad de continuar la SPPS Fmoc en aminoácidos Fmoc anclados por cadena lateral. Con este propósito, se sometieron las resinas 14 y 18 a desprotección de Fmoc durante 20 minutos en solución de DMF/pip 8/2, y a continuación se sometieron a una etapa de acoplamiento con Fmoc-Phe-OH o Fmoc-Ala-OH mediante activación por BOP/DIEA. Posteriormente, los dipéptidos 16, 17, 20, 21 (Fmoc-Phe-Ser-(OH)-OMe, Fmoc-Ala-Ser-(OH)-OMe, Fmoc-Phe-Tyr(OH)-OMe, Fmoc-Ala-Tyr(OH)-OMe, respectivamente) se escindieron con éxito del soporte sólido por tratamiento con TFA, con altos grados de pureza y rendimientos del 15%.

Se identificó un diastereoisómero del dipéptido 17 (Fmoc-Phe-Ser-OMe) (< 10%), probablemente debido a la enolización promovida por epimerización del residuo de serina durante el acoplamiento de Fmoc-Ser-OMe sobre el conector pipecólico. La serina es conocida por su sensibilidad a la epimerización. En el caso de la tirosina unida al soporte sólido, no se observó epimerización.

Ejemplo 5 - unión de alcohol (fmoc-ser-ome) a la resina pip-am-ps y recuperación de dicho alcohol

La resina AM-PS pipecólica (A) (200 mg, 0,182 mmol, 0,91 mmol/g) se hinchó en 5,4 ml de solución de acoplamiento en DMF que contenía BOP (239 mg, 100 mM, 540 μ mol, 3 eq), DIEA (140 mg, 188 μ l, 200 mM, 540 μ mol, 6 eq) y Fmoc-Ser-OMe (184 mg, 100 mM, 540 μ mol, 3 eq). La resina se agitó suavemente durante 2 horas y se lavó con DMF (3x), MeOH, DCM (2x). La resina se escindió con TFA durante 90 minutos con agitación suave. La resina se filtró y la solución de TFA se concentró bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en solución de acetonitrilo/agua 1/1 y se liofilizó. Tras la liofilización, se obtuvieron 18,2 mg (rendimiento 30%, pureza 97%) del compuesto 15 y se sometieron a LC/MS y análisis por HPLC (RT = 1,35 min, MS ESI+ $[M+H]^+$ m/z = 342,0).

Ejemplo 6 - acilación de aminoácido unido al conector por cadena lateral: síntesis de dipéptido c a n

La resina 14 (es decir, Fmoc-Ser(resina pip-AM-PS)-OMe) (100 mg, 32 μ mol, 0,32 mmol/g) se hinchó en 2,7 ml de solución de acoplamiento en DMF que contenía BOP (119 mg, 100 mM, 270 μ mol, 8,4 eq), DIEA (70 mg, 94 μ l, 200 mM, 540 μ mol, 16,8 eq) y Fmoc-Ala-OH (84 mg, 100 mM, 270 μ mol, 8,4 eq). La resina se agitó suavemente durante 2 horas y a continuación se lavó con DMF (3x), MeOH, DCM (2x), y se escindió con TFA durante 90 minutos con agitación suave. La resina se filtró y la solución de TFA se concentró bajo nitrógeno. El residuo se disolvió en solución de acetonitrilo/agua 1/1 y se liofilizó. Tras la liofilización, se obtuvieron 8,4 mg (rendimiento de la etapa de acilación: 64%, rendimiento total: 19%, pureza 96%) del dipéptido 16 y se sometieron a LC/MS y análisis por HPLC (RT = 1,26 min, MS ESI+ $[M+H]^+$ m/z = 412,9).

Este conjunto de ejemplos ilustra la facilidad de la carga de amina o alcohol sobre conector pipecólico activado y la flexibilidad de este nuevo conector para la síntesis en fase sólida.

III.6 Estudios de cinética de escisión

El procedimiento de escisión utilizado en ensayos anteriores fue el tratamiento con TFA al 100% durante 90 minutos, basado en las observaciones de los presentes inventores durante la síntesis de bibliotecas en series de arilpiperazina (Zajdel y otros, 2004). Sin embargo, se llevaron a cabo investigaciones adicionales para estudiar la sensibilidad al medio ácido del conector pipecólico. Los experimentos se ajustaron para la escisión de la resina 2 para los enlaces amida, y de las resinas 14 y 18 para los enlaces éster.

Se introdujeron 100 mg de las resinas 2, 14 o 18 en viales que contenían 5 ml de una de las siguientes soluciones de escisión: TFA al 100%, TFA al 10% en DCM, TFA al 1% en DCM, AcOH al 95% y AcOH al 10% en DCM. Se recogieron alícuotas de la solución (100 μ l) en diferentes momentos durante 24 horas y se analizaron por HPLC. Se midieron las áreas de pico a 301 nm, correspondientes al Fmoc-1-amino-3-aminopropano liberado de la resina 2, Fmoc-Ser-OMe (15) liberado de la resina 14 y Fmoc-Tyr-OMe (19) de la resina 18 y se recogieron los datos. Las curvas se presentan en las figuras 1 a 3.

Un enlace éster y un enlace amida mostraron prácticamente el mismo comportamiento en condiciones ácidas. En

general, el conector pipecólico no es estable en condiciones ácidas; es decir, tras 1 h de tratamiento con TFA de los enlaces amida y éster, casi el 80% del producto se había liberado de la resina, mientras que el producto se había liberado del soporte tras 12 h de tratamiento con TFA puro.

El enlace tampoco era totalmente estable en TFA al 1%, ya que, tras una hora de tratamiento, se había liberado del soporte una cantidad del 10% del producto. Cabe destacar asimismo que una hora de tratamiento de la resina con la mezcla de AcOH al 10% en DMF dio lugar a la escisión del 70% del éster metílico del aminoácido N-Fmoc unido al soporte. Sorprendentemente, una hora de tratamiento del enlace amida con AcOH al 95% liberó únicamente el 22% del éster metílico del aminoácido N-Fmoc. El tratamiento posterior durante 12 y 24 horas dio lugar a la escisión del 65% y el 80% del compuesto, respectivamente. Probablemente, esto se debía al hecho de que el ácido acético puro no hinchó suficientemente la resina de PS.

IV: Conclusión

La presente memoria presenta el diseño de un nuevo conector a base de ácido pipecólico. Tras el tratamiento con ácido, un mecanismo que comprende un intermediario de oxazolinio-5-ona (munchnona) de escisión de un enlace amida o un éster libera una amina primaria o un alcohol en solución. Los presentes inventores han demostrado la eficacia del conector pipecólico para anclar aminas y alcohol mediante la activación de las funciones ácido carboxílico soportadas. Los estudios de la cinética de escisión pusieron claramente de manifiesto la labilidad frente a ácidos de este conector, que se pudo utilizar como alternativa al conector de tritilo en estrategias de protección basadas en la utilización de Fmoc. Los ejemplos de SPPS inversa, síntesis de pseudopéptidos y anclaje de cadenas laterales de aminoácidos ilustraban la versatilidad de este nuevo conector. Con respecto a la estrategia de anclaje, muy sencilla, actualmente se está investigando en el laboratorio la unión de otros nucleófilos a un soporte sólido a través de un conector pipecólico.

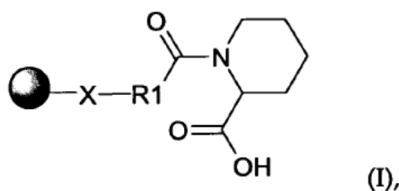
Referencias bibliográficas

- Boschi, D.; Tron, G. C.; Lazzarato, L.; Chegaev, K.; Cena, C.; Di Stilo, A.; Giorgis, M.; Bertinaria, M.; Fruttero, R.; Gasco, A. *Journal of Medicinal Chemistry* 2006, 49, 2886-2897.
- Nam, N.-H.; Sardari, S.; Parang, K. *Journal of Combinatorial Chemistry* 2003, 5, 479-546.
- Stromgaard, K.; Andersen, K.; Ruhland, T.; Krogsgaard-Larsen, P.; Jaroszewski, J. W. *Synthesis* 2001, 877-884.
- Albericio, F.; Frieden, A.; Del Fresno, M.; Royo, M.; Alsina, J.; Jensen, K. J.; Kates, S. A.; Barany, G. *Innovation and Perspectives in Solid Phase Synthesis & Combinatorial Libraries: Peptides, Proteins and Nucleic Acids--Small Molecule Organic Chemical Diversity, Collected Papers, International Symposium, 5th, Londres, 2-6 de septiembre, 1997* 1999a, 7-10.
- Alsina, J.; Yokum, T. S.; Albericio, F.; Barany, G. *Journal of Organic Chemistry* 1999, 64, 8761-8769.
- Jensen, K. J.; Alsina, J.; Songster, M. F.; Vagner, J.; Albericio, F.; Barany, G. *Journal of the American Chemical Society* 1998, 120, 5441-5452.
- Albericio, F.; Del Fresno, M.; Frieden, A.; Royo, M.; Alsina, J.; Jensen, K. J.; Kates, S. A.; Barany, G. *Peptides: Frontiers of Peptide Science, Proceedings of the American Peptide Symposium, 15th, Nashville, 14-19 o, 1997* 1999b, 37-39.
- Hamze, A.; Martinez, J.; Hernandez, J.-F. *Journal of Organic Chemistry* 2004, 69, 8394-8402.
- Subra, G.; Amblard, M.; Martinez, J. *Tetrahedron Letters* 2002, 43, 9221-9223.
- Cantel, S.; Heitz, A.; Martinez, J.; Fehrentz, J.-A. *Journal of Peptide Science* 2004, 10, 531-534.
- Cantel, S.; Boeglin, D.; Rolland, M.; Martinez, J.; Fehrentz, J.-A. *Tetrahedron Letters* 2003, 44, 4797-4799.
- Zajdel, P.; Subra, G.; Bojarski Andrzej, J.; Duszynska, B.; Pawlowski, M.; Martinez, J. *Journal of Combinatorial Chemistry* 2004, 6, 761-767.
- Wei, L.; Wu, Y.-Q.; Wilkinson, D. E.; Chen, Y.; Soni, R.; Scott, C.; Ross, D. T.; Guo, H.; Howorth, P.; Valentine, H.; Liang, S.; Spicer, D.; Fuller, M.; Steiner, J.; Hamilton, G. S. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2002, 12, 1429-1433.
- Maison, W.; Lutzen, A.; Kosten, M.; Schlemminger, I.; Westerhoff, O.; Martens, J. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1: Organic and Bio-Organic Chemistry* 1999, 3515-3525.

- Attardi, M. E.; Porcu, G.; Taddei, M. Tetrahedron Letters 2000, 41, 7391-7394.
- 5 - Barlos, K.; Gatos, D.; Kallitsis, I.; Papaioannou, D.; Sotiriou, P. Liebigs Annalen der Chemie 1988, 1079-81.
- Bernhardt, A.; Drewello, M.; Schutkowski, M. The Journal of Peptide Research 1997, 50, 143-152.
- Gutheil, W. G.; Xu, Q. In PCT Int. Appl.; (The Curators of the University of Missouri, USA). Wo, 2002, p 30 pp.
- 10 - Gutheil, W. G.; Xu, Q. Chemical & Pharmaceutical Bulletin 2002, 50, 688-691.
- Johansson, A.; Akerblom, E.; Ersmark, K.; Lindeberg, G.; Hallberg, A. Journal of Combinatorial Chemistry 2000, 2, 496-507.

REIVINDICACIONES

1. Combinación fase sólida-conector con la fórmula siguiente:



en la que



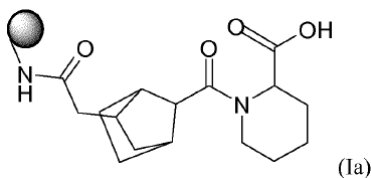
representa un soporte sólido utilizado en síntesis orgánica,

X está ausente o representa $-NR_2-$, $-NR_2-CO-$, $-S-CO-$, $-O-$, $-CO-NR_2-$, $-S-$, $-CO-S-$, $-CO-O-$, $-O-CO-$, $-SO_2-NR_2-$ o NR_2SO_2- , en la que R_2 representa H o un alquilo (C_1-C_6), ventajosamente H, entendiéndose que X puede estar separado del soporte sólido mediante un espaciador, y

R_1 representa un grupo alquilo (C_3-C_{30}) ramificado, un grupo alquenilo (C_3-C_{30}) ramificado, un grupo alquinilo (C_3-C_{30}) ramificado, un grupo cicloalquilo (C_4-C_{12}) monocíclico o policíclico, un alquilo (C_1-C_6)-grupo cicloalquilo (C_4-C_{12}) monocíclico o policíclico, un alquenilo (C_6-C_{12})-grupo cicloalquilo (C_4-C_{12}) monocíclico o policíclico, o un alquinilo (C_2-C_6)-grupo cicloalquilo (C_4-C_{12}) monocíclico o policíclico.

2. Combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la reivindicación 1, en la que X representa $NH-CO-$ o $-CO-NH-$.

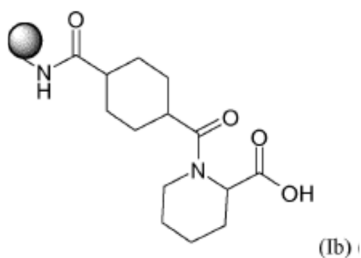
3. Combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según la reivindicación 1 o 2, que está representada por la fórmula seleccionada de entre las fórmulas siguientes:



en la que



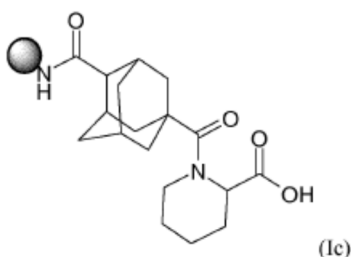
es tal como se define en la reivindicación 1,



en la que



es tal como se define en la reivindicación 1, y

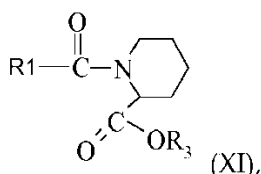


en la que



5 es tal como se define en la reivindicación 1.

4. Utilización de un compuesto que presenta la fórmula siguiente:



10 en la que R_1 es tal como se define en la reivindicación 1 y R_1 está funcionalizado con un grupo funcional Y, en la que Y representa -OH, -COOH, -NHR₂, -SO₂, -SO₃H o -SH, y R_3 representa un grupo protector de O, como un conector de fase sólida.

15 5. Utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para el acoplamiento de grupos funcionales seleccionados de entre aminas primarias, aminas secundarias, aminas aromáticas, alcoholes, fenoles y tioles.

20 6. Utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la síntesis de péptidos inversa N a C o para la síntesis de péptidos C a N o para la síntesis de pseudopéptidos o síntesis de péptidos retroinverso.

25 7. Utilización de la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la síntesis de moléculas orgánicas pequeñas.

8. Procedimiento de síntesis de péptidos inversa N a C, que comprende las etapas sucesivas siguientes:

30 (a2) acoplar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I), según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, con unos aminoácidos protegidos en COO, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener unos aminoácidos protegidos en COO acoplados con la combinación fase sólida-conector,

(b2) desproteger en COO los aminoácidos acoplados con la combinación fase sólida-conector,

35 (c2) acoplar los aminoácidos desprotegidos en COO acoplados con la combinación fase sólida-conector obtenidos en la etapa (b2) con unos aminoácidos protegidos en COO, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener unos péptidos protegidos en COO acoplados con la combinación fase sólida-conector,

40 (d2) repetir opcionalmente las etapas (b2) y (c2) tantas veces como sea necesario para obtener una combinación fase sólida-conector cargada con cadenas peptídicas,

(e2) escindir el enlace entre la combinación fase sólida-conector y las cadenas peptídicas a fin de recuperar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) y las cadenas peptídicas.

45 9. Procedimiento de síntesis de péptidos inversa N a C según la reivindicación 8, en el que comprende, antes o después de la etapa (e2), una etapa (f2) adicional de desproteger las cadenas laterales de aminoácido de las cadenas peptídicas y/o desproteger en COO las cadenas peptídicas.

50 10. Procedimiento de síntesis de péptidos inversa N a C según cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9, en el que la etapa de acoplamiento (a2) y/o (c2) se lleva a cabo bajo activación de hexafluorofosfato de N-óxido de N-

[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo-[4,5-b]piridin-1-il-metilen]-N-metilmetanaminio en presencia de 2,4,6-trimetilpiridina en un disolvente tal como dimetilformamida, a fin de evitar la epimerización de los aminoácidos.

11. Procedimiento de síntesis de péptidos C a N, que comprende las etapas sucesivas siguientes:

- (a3) acoplar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 con aminoácidos protegidos en N y protegidos en COO cuyas cadenas laterales son portadoras de un grupo desprotegido seleccionado de entre un grupo hidroxilo, un grupo amina y un grupo tiol, a fin de obtener unos aminoácidos protegidos en N y protegidos en COO acoplados con la combinación fase sólida-conector,
- (b3) desproteger en N los aminoácidos protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector a fin de obtener unos aminoácidos desprotegidos en N protegidos en COO acoplados a la combinación fase sólida-conector,
- (c3) acoplar los aminoácidos desprotegidos en N protegidos en COO con aminoácidos protegidos en N, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener unos péptidos protegidos en N protegidos en COO acoplados con la combinación fase sólida-conector,
- (d3) desproteger en N los péptidos protegidos en COO acoplados obtenidos en la etapa (c3),
- (e3) repetir opcionalmente las etapas (c3) y (d3) tantas veces como sea necesario para obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula (I) cargada con cadenas peptídicas,
- (f3) escindir el enlace entre la combinación fase sólida-conector y las cadenas peptídicas a fin de recuperar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) y las cadenas peptídicas.

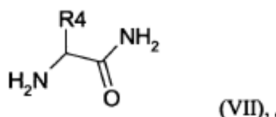
12. Procedimiento de síntesis de péptidos C a N según la reivindicación 11, en el que comprende, antes o después de la etapa (f3), una etapa (g3) adicional de desproteger las cadenas laterales de aminoácido de las cadenas peptídicas y/o desproteger en COO las cadenas peptídicas.

13. Procedimiento de síntesis de péptidos C a N según la reivindicación 11 o 12, en el que los aminoácidos protegidos en N y en COO, cuyas cadenas laterales son portadoras de un grupo desprotegido de la etapa (a3), se seleccionan de entre el grupo que consiste en:

- las treonina, serina y tirosina protegidas en N y protegidas en COO que son portadoras de un grupo hidroxilo,
- los lisina, ornitina, ácido diaminobutírico y ácido diaminopropiónico protegidos en N y protegidos en COO que son portadores de un grupo amina, y
- la cisteína protegida en N y protegida en COO que es portadora de un grupo tiol.

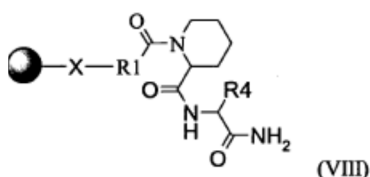
14. Procedimiento de síntesis de péptidos retroinverso, que comprende las etapas sucesivas siguientes:

- (a4) acoplar un compuesto de fórmula



en la que R_4 representa la cadena lateral de un aminoácido en la que las funciones reactivas están protegidas,

con la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 a fin de obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula

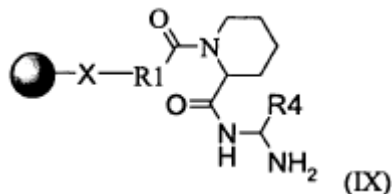


en la que $\bullet$, X y R_1 son tal como se definen en la reivindicación 1 y R_4 es tal como se ha definido

anteriormente,

- (b4) tratar la combinación fase sólida-conector de fórmula (VIII) obtenida en la etapa (a4) a fin de obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula

5



en la que , X, R₁ y R₄ son tal como se han definido anteriormente,

- 10 (c4) acoplar la combinación fase sólida-conector de fórmula (IX) obtenida en la etapa (b4) con unos aminoácidos protegidos en N en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener unos aminoácidos protegidos en N acoplados a la combinación fase sólida-conector de fórmula (IX),

- 15 (d4) desproteger en N los aminoácidos acoplados,

- (e4) acoplar los aminoácidos acoplados desprotegidos en N de la etapa (d4) con unos aminoácidos protegidos en N, en los que las funciones reactivas de las cadenas laterales de los aminoácidos están protegidas, a fin de obtener un péptido protegido en N acoplado con la combinación fase sólida-conector de fórmula (IX),

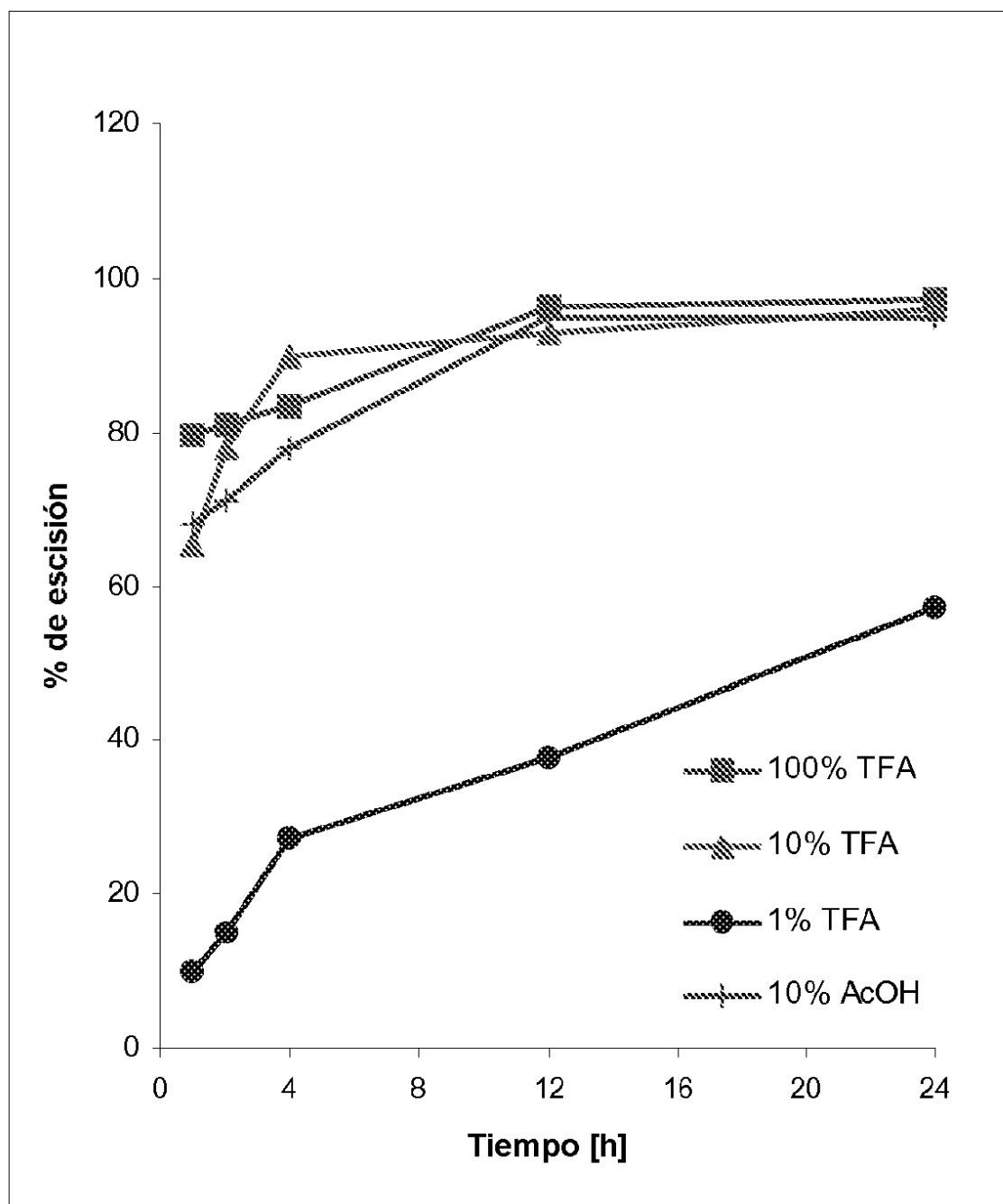
20

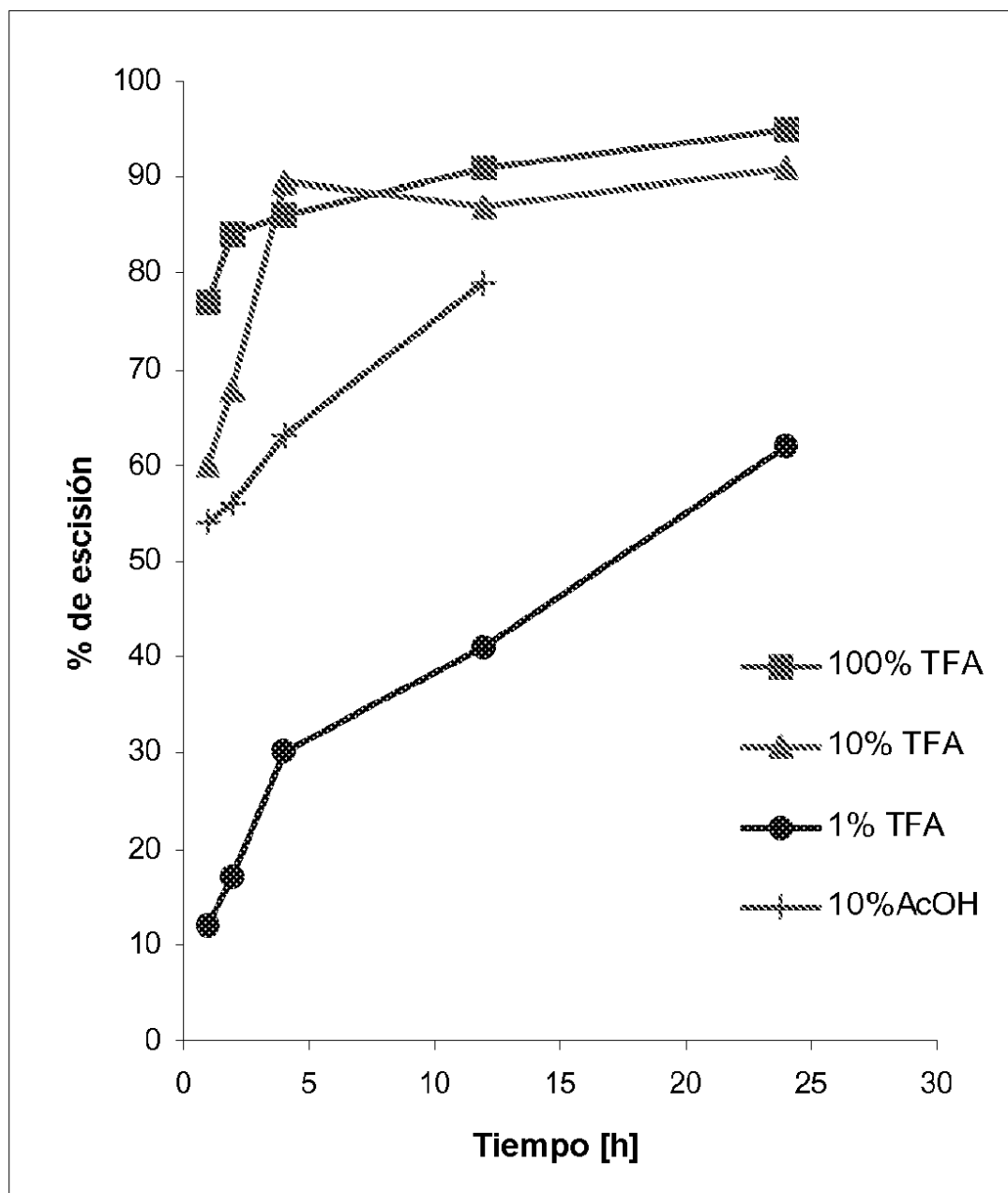
- (f4) repetir opcionalmente las etapas (d4) y (e4) tantas veces como sea necesario para obtener una combinación fase sólida-conector de fórmula (I) cargada con unas cadenas peptídicas retroinverso,

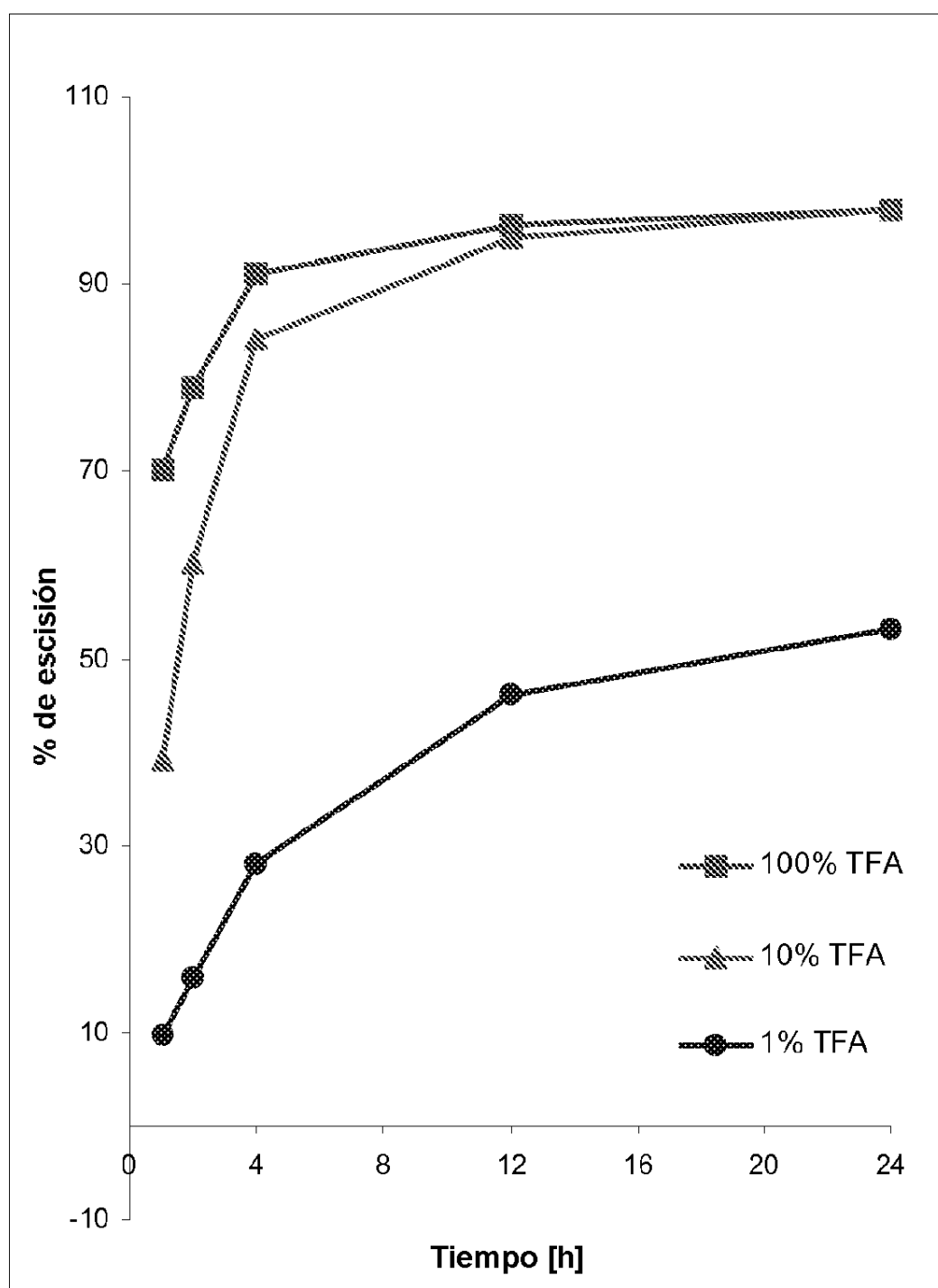
25

- (g4) escindir el enlace entre la combinación fase sólida-conector y las cadenas peptídicas a fin de recuperar la combinación fase sólida-conector de fórmula (I) y las cadenas peptídicas.

15. Procedimiento de síntesis de péptidos retroinverso según la reivindicación 14, que comprende, antes o después de la etapa (g4), una etapa (h4) adicional de desproteger las cadenas laterales de aminoácido de las cadenas peptídicas y/o desproteger en N las cadenas peptídicas.

**Figura 1**

**Figura 2**

**Figura 3**