

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 564 930**

51 Int. Cl.:

**C07B 53/00** (2006.01)

**C07D 209/20** (2006.01)

**C07D 513/08** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.12.2010 E 10790562 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.02.2016 EP 2513016**

54 Título: **Procedimiento mejorado de producción de intermediarios para la producción de macrociclos que son inhibidores de la degradación proteasómica de p27, como argirina y sus derivados**

30 Prioridad:

**14.12.2009 US 286097 P**

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

**30.03.2016**

73 Titular/es:

**HELMHOLTZ-ZENTRUM FÜR  
INFEKTIONSFORSCHUNG GMBH (33.3%)**

**Inhoffenstrasse 7**

**38124 Braunschweig, DE;**

**MEDIZINISCHE HOCHSCHULE HANNOVER**

**(33.3%) y**

**GOTTFRIED WILHELM LEIBNIZ UNIVERSITÄT**

**HANNOVER (33.3%)**

72 Inventor/es:

**KALESSE, MARKUS y**

**EGGERT, ULRIKE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 564 930 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

Procedimiento mejorado de producción de intermediarios para la producción de macrociclos que son inhibidores de la degradación proteasómica de p27, como argirina y sus derivados

5 La presente invención se refiere a un procedimiento mejorado para la síntesis de macrociclos particulares que son inhibidores de la degradación proteasómica de p27, en particular argirina y sus derivados.

**Antecedentes de la invención**

10 La reducción de los niveles celulares del inhibidor de ciclina quinasa p27<sup>kip1</sup> se encuentra frecuentemente en muchos cánceres humanos y se correlaciona directamente con el pronóstico del paciente (Philipp-Staheli, J., Payne, S.R. and Kemp, C.J. p27(Kip1): regulation and function of a haplo-insufficient tumour suppressor and its misregulation in cancer. *Exp Cell Res* 264, 148-68 (2001)). Se ha demostrado específicamente que el recambio proteasomal dependiente de la ubiquitina causa una reducción en la expresión de p27 en muchos cánceres humanos (Loda, M. et al. Increased proteasome-dependent degradation of the cyclin dependent kinase inhibitor p27 in aggressive colorectal carcinomas. *Nat Med* 3, 231-4 (1997)).

15 El documento GB 2.367.553 da a conocer macrociclos farmacéuticamente activos ("argirinas") y respectivas preparaciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, la inducción de la inmunotolerancia o el tratamiento de infecciones bacterianas.

20 Sasse F et al. (in Sasse F, Steinmetz H, Schupp T, Petersen F, Memmert K, Hofmann H, Heusser C, Brinkmann V, von Matt P, Hofle G, Reichenbach H. Argyrins, immunosuppressive cyclic peptides from myxobacteria. I. Production, isolation, physico-chemical and biological properties. *J Antibiot (Tokio)*. 2002 Jun;55(6):543-51.) describen la producción de un grupo de péptidos cíclicos llamados argirinas, así como algunas de sus propiedades biológicas. Vollbrecht et al. (en Vollbrecht L, Steinmetz H, Hofle G, Oberer, L, Rihs G, Bovermann G, and von Matt P. Argyrins, immunosuppressive cyclic peptides from myxobacteria. II. Structure elucidation and stereochemistry. *J Antibiot (Tokio)*. Agosto de 2002; 55(8):715-721.) describe la estructura de dichos péptidos cíclicos. Las argirinas A-H se pueden obtener de la mixobacteria *Aarchangium gephyra*.

25 En forma similar, Ley et al. (en Ley SV, Priour A, Heusser C. Total synthesis of the cyclic heptapeptide Argyrin B: a new potent inhibitor of T-cell independent antibody formation. *Org Lett*. 2002 Mar 7;4(5):711-4.) describe la síntesis de argirina B y su función como inhibidor de la formación de anticuerpos.

El documento EP1964560 describe el uso de los macrociclos del documento GB 2.367.553 para la producción de un medicamento para el tratamiento del cáncer en un sujeto.

30 El documento WO / 2010/006682 "Method for producing intermediates for the production of novel macrocycles that are inhibitors of the proteasomic degradation of p27, such as argyirin and derivatives thereof, and uses of said macrocycles", que se incorpora al presente por referencia en su totalidad, describe intermediarios para la producción de macrociclos que son inhibidores de la degradación proteasómica de p27, como argirina y derivados de la misma, así como procedimientos para la producción y la actividad biológica de dichos macrociclos.

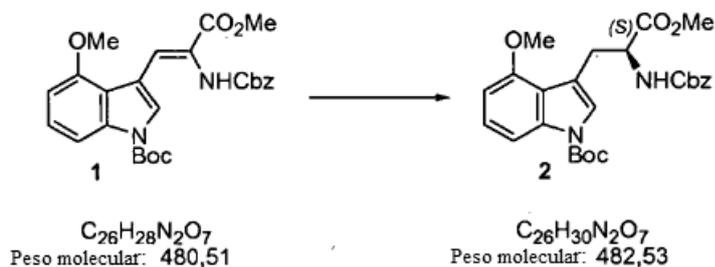
35 Hisashi Takahashi et al. "Efficient asymmetric hydrogenations of (Z)-acetamidoacrylic acid derivatives with the cationic rhodium complex (2S,4S)-MOD-BPPM", *Chem. Lett.*, 1989, páginas 305-308, da a conocer en la Tabla 1 entrada 11 una estrategia de hidrogenación asimétrica utilizando un ligando diferente. Del mismo modo, Duan Liu et al. "Practical P-chiral phosphane ligand for Rh-catalyzed asymmetric hydrogenation", *Eur. J. Org. Chem.*, 2005, páginas 646-649, describe también una estrategia de hidrogenación asimétrica utilizando el mismo catalizador activo sobre un sustrato diferente.

40 Las argirinas y los macrociclos afines, por tanto, son candidatos interesantes para el futuro desarrollo de medicamentos para un tratamiento en una variedad de condiciones, tales como la inducción de la inmunotolerancia, enfermedades autoinmunes, infecciones bacterianas y enfermedades proliferativas, como el cáncer.

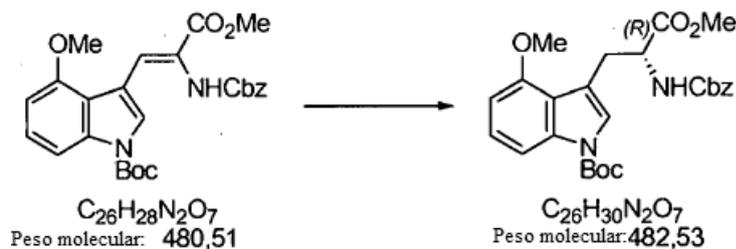
45 Sin embargo, el pleno aprovechamiento del potencial farmacéutico de las argirinas y sus derivados relacionados es difícil debido a su estructura química relativamente compleja, que requiere esfuerzos laboriosos para aislar cantidades suficientes de los compuestos (por ejemplo, de microorganismos), y limita el número de compuestos efectivos de esta familia que están fácilmente disponibles para los estudios y tratamiento. Es particularmente difícil producir fácilmente formas estereoselectiva de argirinas en cantidades y purezas suficientes.

50 Es por tanto un objeto de la presente invención proporcionar procedimientos mejorados para la producción de compuestos de la familia de argirinas, y respectivos intermedios.

De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, el objeto anterior se resuelve mediante un procedimiento para producir opcionalmente L-4-metoxitriptófano protegido, que comprende la síntesis del L-4-metoxitriptófano metil éster protegido según la fórmula 2 a partir de un compuesto según la fórmula 1



5 que comprende una hidrogenación asimétrica utilizando [1*S*,1*S'*,2*R*,2*R'*-DuanPhos Rh(cod)]BF<sub>4</sub> como catalizador. De acuerdo con un segundo aspecto de la presente invención, el objeto anterior se resuelve adicionalmente mediante un procedimiento para la producción de D-4-metoxitriptófano opcionalmente protegido que comprende la síntesis del D-4-metoxi triptófano metil éster protegido de acuerdo con la siguiente fórmula, a partir de un compuesto de acuerdo a la fórmula 1



que comprende una hidrogenación asimétrica utilizando [1*R*,1*R'*,2*S*,2*S'*-DuanPhos Rh(cod)]BF<sub>4</sub> como catalizador.

10 Por lo tanto, se prefiere un procedimiento para la producción estereoselectiva de D-4- o L-4-metoxitriptófano opcionalmente protegido usando hidrogenación catalítica asimétrica, en el que el catalizador se prepara a partir de [Rh(cod)<sub>2</sub>]BF<sub>4</sub> y 1*S*,1*S'*,2*R*,2*R'*-DuanPhos o 1*R*,1*R'*,2*S*,2*S'*-DuanPhos respectivamente. Se prefiere un procedimiento, en el que el exceso enantiomérico es al menos 97% ee, y 98% ee, respectivamente. El más preferido es más de 99% ee.

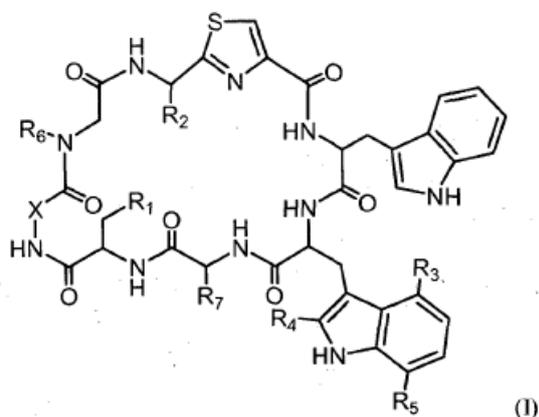
15 Inicialmente, 4-metoxi-L-triptófano se producía sólo a través de una resolución enzimática (Ley, S. V.; Priour, A. Eur. J. Org. Chem. 2002, 3995-4004; Ley, S. V.; Priour, A.; Heusser, C. Org. Lett. 2002, 4, 711-714). Los rendimientos que se pueden obtener en principio nunca pueden exceder 50%. En la práctica, sólo se alcanzaron rendimientos tan bajos como entre el 10 y el 40%. PCT / EP2009 / 004526 describe una síntesis que sólo se puede lograr con una selectividad de 90% ee. Ahora se descubrió sorprendentemente que, utilizando los catalizadores de hidrogenación tal como se presenta en este documento, podría lograrse una mejora marcada en la hidratación asimétrica y por lo tanto, en la síntesis del elemento metoxitriptófano y la síntesis general de argirinas.

Por lo tanto, además se prefiere un procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención o 4-metoxi-L- o 4-metoxi-D-triptófano como más arriba, en el que la síntesis se lleva a cabo sin el uso de enzimas.

25 Aún más preferido es un procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención, en el que dicha síntesis comprende una síntesis en fase sólida. Más preferiblemente, dicha síntesis comprende la síntesis de péptidos en fase sólida de un precursor lineal que implica el aminoácido anteriormente mencionado. La síntesis en fase sólida permite la eliminación para producir el grupo exo-metileno después del cierre del anillo.

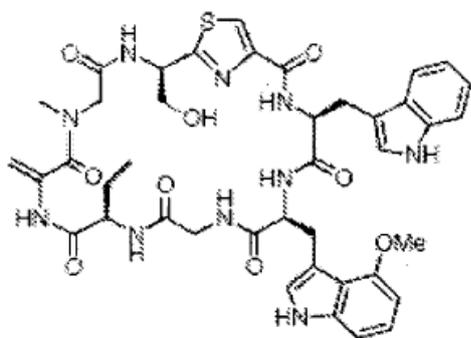
30 En el procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención, dicha hidrogenación asimétrica se puede llevar a cabo bajo una presión de entre 1 y 100 bares, preferentemente entre 1 y 20 bares, y lo más preferiblemente 1 a 10 bares. Se prefiere un procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención, en el que dicha hidrogenación asimétrica se lleve a cabo a una temperatura de entre 15 °C y 100 °C. También se prefiere un procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención, en el que dicha hidrogenación asimétrica se lleve a cabo usando alcohol, y preferiblemente metanol, como disolvente. Ventajosamente, el presente procedimiento proporciona el/los elemento/s triptófano con un alto valor ee específico. Esto simplifica la purificación al final de la síntesis y aumenta el/los rendimiento/s.

De acuerdo con un tercer aspecto de la presente invención, el objeto anterior se resuelve mediante un procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la siguiente fórmula general (I)

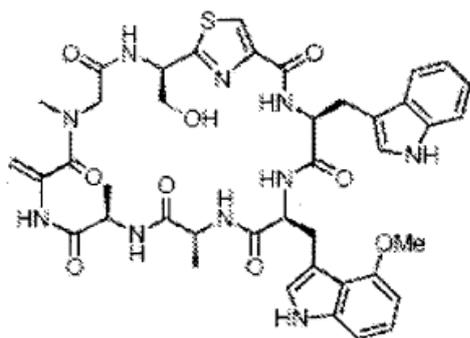


5 en la que  $R^1$  y  $R^2$  son independientemente hidrógeno, alquilo  $C_1-C_4$  que está sin sustituir o sustituido por OH, o alcoxi  $C_1-C_4$ ;  $R^3$  es hidrógeno, alcoxi  $C_1-C_4$ , alquilo  $C_1-C_8$  que está sin sustituir o sustituido por OH u OR, en donde R se selecciona de hidrógeno, alquilo  $C_1-C_4$ , arilo o acetilo, o alcoxi  $C_1-C_4$ ,  $R^4$  es hidrógeno, halógeno, alquilo  $C_1-C_4$  que está sin sustituir o sustituido por OH, o alcoxi  $C_1-C_4$ ;  $R^5$  es hidrógeno o halógeno;  $R^6$  es hidrógeno o alquilo  $C_1-C_4$ ;  $R^7$  es hidrógeno o alquilo  $C_1-C_4$  que está sin sustituir o sustituido por OH, o alcoxi  $C_1-C_4$ ; y X es  $C=CH_2$  o  $CHR^8$ , en el que  $R^8$  es alquilo  $C_1-C_4$  que está sin sustituir o sustituido por alquilo  $-S-C_1-C_4$ , y estereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, que comprende una síntesis de 4-metoxi-triptófano opcionalmente protegido de acuerdo con el presente invención. Se prefiere un procedimiento como el anterior, en el que  $R^7$  es hidrógeno o alquilo  $C_1-C_4$  que está no sustituido o sustituido por OH, o alcoxi  $C_1-C_4$ ; y X es  $C=CH_2$  o  $CHR^7$ , en el que  $R^7$  es alquilo  $C_1-C_4$  que está sin sustituir o sustituido por alquilo  $-S-C_1-C_4$ . Más preferido es un procedimiento como el anterior, en el que si  $R^1$  no es hidrógeno, X debe ser  $CH_2$ .

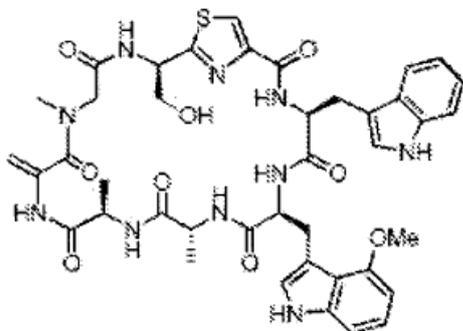
15 Se prefiere adicionalmente un procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención, en el que dicho compuesto macrociclo se selecciona de una argirina, como argirina A-F, B/F, y Ala alfa y Ala beta, y estereoisómeros aislados de las mismas. Se prefiere particularmente un procedimiento de la presente invención, tal como más arriba para producir un compuesto macrociclo que se selecciona de las siguientes fórmulas



Argirina B/F



## Argirina Ala beta



## Argirina Ala alfa

5 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Se prefiere adicionalmente un procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención que comprende además la etapa de una modificación química de dicho compuesto. En este caso, el compuesto funcionará como una llamada "estructura principal", que se somete además a modificaciones químicas que luego son detectadas para su eficacia para incrementar la cantidad y/o actividad biológica de p27 en uno o más procedimientos de detección según lo conocido. La modificación puede efectuarse por una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, que incluyen, sin limitación, la introducción de nuevas cadenas laterales o el intercambio de grupos funcionales como, por ejemplo, introducción de halógenos, en particular F, Cl o Br, la introducción de grupos alquilo inferior, que tienen preferiblemente de uno a cinco átomos de carbono como, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo, n-pentilo o iso-pentilo, grupos alqueno inferior, que preferiblemente tienen de dos a cinco átomos de carbono, grupos alquino inferior, que preferiblemente tienen de dos a cinco átomos de carbono o por medio de la introducción de, por ejemplo, un grupo seleccionado del grupo que consiste en NH<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, OH, SH, NH, CN, arilo, heteroarilo, COH o un grupo COOH. Además, grupos de péptidos adicionales podrían añadirse a la molécula, tal como aminoácidos individuales, dipéptidos, tripéptidos y así sucesivamente.

20 Sin embargo, otro aspecto de la presente invención está dirigida a un procedimiento para producir una composición farmacéutica, que comprende el procedimiento para producir un compuesto macrociclo de acuerdo con la presente invención como en el presente, y mezclar dicho compuesto macrociclo junto con vehículos y / o excipientes farmacéuticamente aceptables. Los vehículos, excipientes y estrategias para formular una composición farmacéutica, por ejemplo, para ser administrada sistémicamente o tópicamente, por cualquier ruta convencional, en particular por vía enteral, por ejemplo, por vía oral, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas, por vía parenteral, por ejemplo en forma de soluciones o suspensiones inyectables, por vía tópica, por ejemplo, en forma de lociones, geles, ungüentos o cremas, o en forma nasal o de de supositorio son bien conocidos por la persona experta y se describen en la bibliografía respectiva.

30 La administración de un agente, por ejemplo, un compuesto se puede realizar por cualquier procedimiento que permite que el agente llegue a las células diana. Estos procedimientos incluyen, por ejemplo, inyección, deposición, implantación, supositorios, ingestión oral, inhalación, administración tópica, o cualquier otro procedimiento de administración donde se obtiene el acceso a las células diana por el agente. Las inyecciones pueden ser, por ejemplo, intravenosa, intradérmica, subcutánea, intramuscular o intraperitoneal. La implantación incluye insertar sistemas de administración de fármacos implantables, por ejemplo, microesferas, hidrogeles, depósitos poliméricos, matrices de colesterol, sistemas poliméricos, por ejemplo, erosión de matriz y / o sistemas de difusión y sistemas no poliméricos, por ejemplo, gránulos comprimidos, condensados o parcialmente fundidos. Los supositorios incluyen supositorios de glicerina. Las dosis de ingestión oral se pueden recubrir en forma entérica. La inhalación incluye administrar el agente con un aerosol en un inhalador, o bien solo o unido a un vehículo que puede ser absorbido. El agente puede ser suspendido en un líquido, por ejemplo, en forma disuelta o coloidal. El líquido puede ser un disolvente, disolvente parcial o no disolvente. En muchos casos, el agua o un líquido orgánico pueden ser utilizados.

Sin embargo, otro aspecto de la presente invención está dirigido entonces a una composición farmacéutica que se produce de acuerdo con el procedimiento como más arriba.

Otro aspecto de la presente invención es el uso de una composición farmacéutica producida de acuerdo con la presente invención para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de la inducción de inmunotolerancia, enfermedades autoinmunes, infecciones bacterianas, y enfermedades proliferativas, tales como psoriasis o cánceres, tal como cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, mieloma, carcinoma de cuello uterino,

carcinoma de pulmón y cáncer de colon. Sin embargo, otro aspecto de la presente invención es el uso de un compuesto de acuerdo con la presente invención para la producción de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de inducción de inmunotolerancia, enfermedades autoinmunes, infecciones bacterianas, y enfermedades proliferativas, tales como psoriasis o cánceres, tal como cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, mieloma, carcinoma del cuello uterino, carcinoma de pulmón, y cáncer de colon.

Los efectos biológicos de diferentes derivados de arginina sintetizados se ensayaron como se describe en la sección de ejemplos del documento WO / 2010/006682, y se descubrió que eran esencialmente idénticos. Así, los compuestos producidos de acuerdo con el presente procedimiento son eficaces en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de inducción de inmunotolerancia, enfermedades autoinmunes, infecciones bacterianas, y enfermedades proliferativas, tales como psoriasis o cánceres, tal como cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, mieloma, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de pulmón y cáncer de colon.

Se supone que la posibilidad de sintetizar los compuestos activos en mejores rendimientos y purzas también mejorará el efecto de las respectivas composiciones farmacéuticas, ya que dosis más bajas pueden ser utilizadas llevando a un menor número de efectos secundarios potenciales. Además, una síntesis más sencilla mejora la seguridad de un medicamento producido respectivamente, como, por ejemplo, se pueden cometer menos errores en el proceso de producción.

Los siguientes ejemplos sirven meramente para ilustrar la invención y no se deben interpretar que limitan el alcance de la invención a las realizaciones particulares de la invención descritas en los ejemplos. Debe entenderse que la siguiente síntesis puede ser modificada fácilmente por la persona experta con el fin de sintetizar otros derivados de la presente invención en base a las estrategias según lo proporcionado.

## Ejemplos

### 1. Síntesis de 4-metoxi-L-triptófano (2)

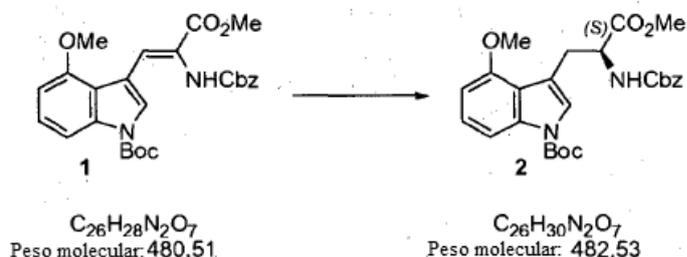
Con el fin de evitar problemas fundamentales en la síntesis (2) se estableció una hidrogenación catalítica estereoselectiva optimizada como un procedimiento de síntesis nuevo, eficiente y económico .

Producción general del catalizador:

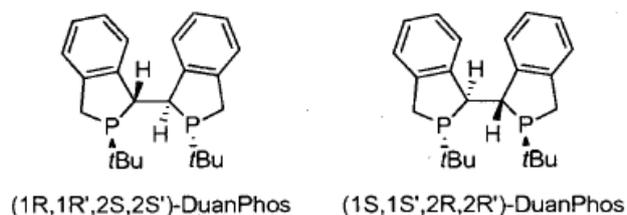
Para la producción del catalizador de hidrogenación se disolvió DuanPhos (70 mg, 0,18 mmol) en THF (1 ml) y se añadió  $[\text{Rh}(\text{cod})_2]\text{BF}_4$  (71 mg, 0,175 mmol) en THF (3 ml). La solución se agitó durante 30 minutos y posteriormente se añadió  $\text{Et}_2\text{O}$  (12,5 ml). El residuo se separó por filtración, se lavó con  $\text{Et}_2\text{O}$ , y los disolventes residuales se eliminaron al vacío

Hidrogenación (S-enantiómero):

El catalizador (1,6 mg) como se produjo a partir de 1S,1S',2R,2R'-DuanPhos y  $[\text{Rh}(\text{cod})_2]\text{BF}_4$  se disuelve en MeOH (3 ml) y se añaden 96 mg del educto 1 MeOH disuelto (1 ml). La mezcla de reacción se hidrogena 1 d a 10 bares. Después de la eliminación del disolvente a presión reducida, el catalizador se elimina mediante filtración en columna (MTBE / PE, 1: 1). El producto de reacción (2) se obtiene con un rendimiento cuantitativo con un exceso enantiomérico de 98,7%.

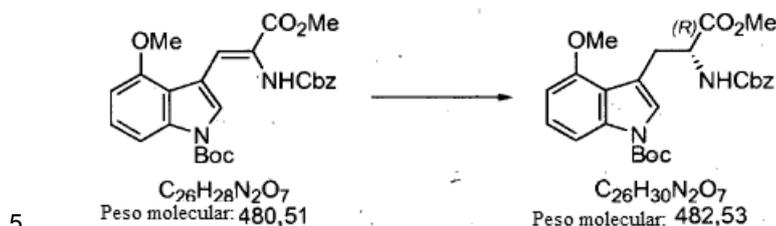


Ligandos para la reacción catalítica:



1S,1S',2R,2R'-DuanPhos ((1((1S,1'S,2R,2'R)-2,2'-Di-terc-butil-2,3,2',3'-tetrahidro-1H,1'H(1,1')biisofosfiindolilo) y 1R,1R',2S,2S'-DuanPhos ((1R,1'R,2S,2'S)-2,2'-di-terc-butil-2,3,2',3'-tetrahidro-1H,1'H-(1,1')biisofosfiindolilo) están comercialmente disponibles, por ejemplo a partir de Sigma-Aldrich, St. Louis, MO.

Síntesis del segundo (R)-enantiómero:



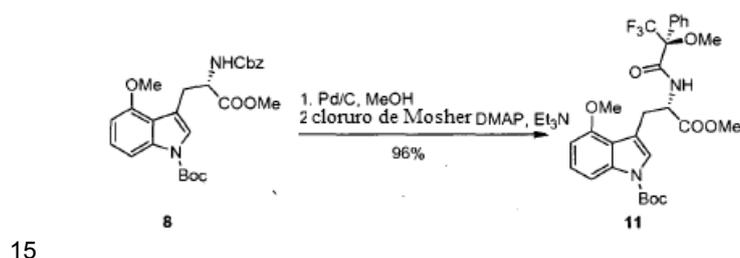
El R-enantiómero del módulo triptófano se produce de acuerdo con el protocolo de síntesis descrito anteriormente utilizando 1R, 1R', 2S, 2S'-DuanPhos.

	PM	d	eq	mmol	
Olefina	480,51	1		0,2	96 mg
Cat.	788,53	0,01		0,0002	1,6 mg
MeOH					4 ml

10 Rendimiento: % ee cuantitativo: 97,6

La enantioselectividad, así como la configuración absoluta se determinó con el procedimiento de Mosher después de la Cbz-desprotección.

Síntesis de Mosher-amida 11



Se añadió paladio sobre carbón (100 mg, 10% peso) a una solución de N<sup>a</sup>-Cbz-N<sup>Ind</sup>-Boc-L-Trp-OMe 8 (20 mg, 0,04 mmol) en metanol (1 ml). La mezcla de reacción se purgó con hidrógeno tres veces y se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de un lecho de Celite®, se lavó con metanol (2 x 3 ml) y se concentró. La amina se utilizó directamente en el siguiente paso.

20 A una solución de la amina (5 mg, 14 μmol) en diclorometano (1 ml) se añadió a temperatura ambiente sucesivamente trietilamina (16 μl, 115 μmol), DMAP (3,2 mg, 26 μmol), cloruro de (S)-Mosher (11 μl, 58 μmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y se inactivó con acetato de etilo (10 ml). La mezcla se lavó sucesivamente con NaHSO<sub>4</sub> saturado acuoso (5 ml), NaOH 1 N (5 ml) y NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (2x 5 ml). La fase orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó por cromatografía de resolución rápida para dar el éster de Mosher correspondiente 11 (8 mg, 14 μmol, 96%).

25

Rf = 0,18 (acetato de etilo/n-hexano 1:3);

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ= 7,83 (d, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,79 (d, 8,5 Hz, 1 H), 7,60-7,53 (m, 2 H), 7,43-7,36 (m, 3 H), 7,33 (s, 1 H), 7,25-7,21 (m, 1 H), 6,67 (d, J = 7,9 Hz, 1 H), 4,78-4,70 (m, 1 H), 3,77 (s, 3 H), 3,75 (s, 3 H), 3,43-3,35 (m, 1 H), 3,28 (dd, J = 14,3, 9,9 Hz, 1 H), 2,92 (d, J = 1,4 Hz, 3 H), 1,66 (s, 9 H),

$^{13}\text{C}$ -RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 171,8, 166,9, 153,5, 149,5, 133,0, 129,7, 129,6, 128,6, 128,3, 128,2, 125,6, 125,2, 123,6, 119,6, 115,3, 108,9, 103,3, 84,0, 77,4, 55,2, 54,9, 52,4, 28,3, 28,0, HRMS (ESI) calculado para  $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_7\text{F}_3\text{Na}$  ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ ): 587,1981, experimental: 587,1982.

#### Síntesis de metoxitriptófano Cbz-protégido

5 Se añadió ácido trifluoroacético (0,5 ml) gota a gota a una solución de metoxitriptófano (95 mg, 0,20 mmol) en diclorometano (4 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 3,5 horas a temperatura ambiente. La solución se concentró por co-evaporación con tolueno (3 x 5 ml) y el triptófano desprotegido resultante se utilizó directamente en la siguiente etapa.

10 Se añadió una solución acuosa 0,5 N de LiOH (0,8 ml, 0,4 mmol) a una solución de la triptófano desprotegido en tetrahidrofurano / metanol / agua (7: 1,3: 4 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La solución se repartió entre HCl 0,1 N acuoso (15 ml) y diclorometano (15 ml). La capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 15 ml) y las capas orgánicas se combinaron, se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en columna (diclorometano con un gradiente de 1-5% de metanol) para dar 51 mg de metoxitriptófano Cbz-protégido 2 como un sólido blanco (0,14 mmol, 70%, 2 etapas).

15  $R_f$  = 0,27 (acetato de etilo/ n-hexano 3: 1, con ácido acético 1%);  $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -44,3$  ( $c = 0,3$ , MeOH)

$^1\text{H}$ -RMN (400 MHz,  $[\text{D}_6]\text{DMSO}$ , 60 °C):  $\delta$  = 10.75 (br, s, 1H), 7.41 (d,  $J = 8$  Hz, 1H), 7.24-7.34 (m, 5H), 6.9-7.2 (m, 3H), 6.44 (d,  $J = 7$  Hz, 1H), 4.95 (m, 2H), 4.30 (m, 1H), 3.83 (s, 3H), 3.35 (dd,  $J = 14$ , 4 Hz, 1H), 2.95 (dd,  $J = 14$ , 10 Hz, 1H).

#### 2. Síntesis y en particular síntesis en fase sólida de argirinas y ensayos funcionales

20 La síntesis de argirinas que comprende la etapa de producción del aminoácido triptófano como más arriba, que comprende en particular una técnica de síntesis de péptidos en fase sólida que permite el montaje rápido y eficiente de los péptidos a través de la automatización, se puede realizar como se describe en la sección de ejemplos del documento WO / 2010/006682.

25 Los efectos biológicos de diferentes derivados de argirina sintetizados se ensayaron como se describe en la sección de ejemplos del documento WO / 2010/006682, y se descubrió que eran esencialmente idénticos. Así, los compuestos producidos de acuerdo con el presente procedimiento son eficaces en el tratamiento de una enfermedad o afección seleccionada de inducción de inmunotolerancia enfermedades autoinmunes, infecciones bacterianas, y enfermedades proliferativas, tales como psoriasis o cánceres, tal como cáncer de mama, carcinoma hepatocelular, mieloma, carcinoma de cuello uterino, carcinoma de pulmón y cáncer de colon.

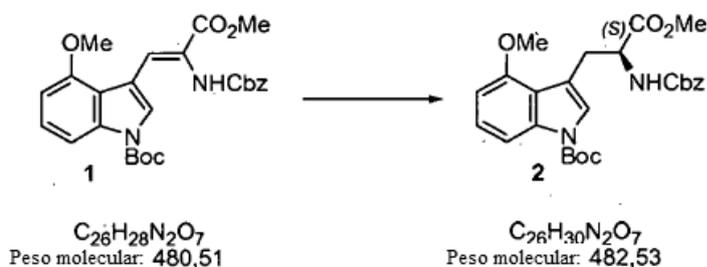
30 Se supone que la posibilidad de sintetizar los compuestos activos en mejores rendimientos y purezas también mejorará el efecto de las respectivas composiciones farmacéuticas, ya que dosis más bajas pueden ser utilizadas dando lugar a menos efectos secundarios potenciales. Además, una síntesis más sencilla mejora la seguridad de un medicamento producido respectivamente, como, por ejemplo, se pueden cometer menos errores en el proceso de producción.

40

45

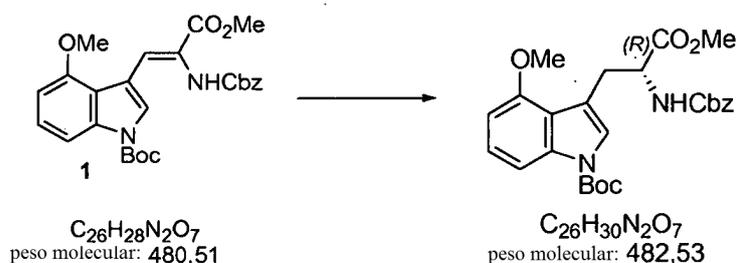
REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de producción L-4-metoxitriptófano opcionalmente protegido que comprende la síntesis de la L-4-metoxi triptófano metil éster protegido según la fórmula 2, partiendo de un compuesto según la fórmula 1



5 que comprende una hidrogenación asimétrica utilizando [1S,1S',2R,2R'-DuanPhos Rh(cod)]BF<sub>4</sub> como catalizador.

2. Un procedimiento de producción D-4-metoxitriptófano opcionalmente protegido que comprende la síntesis de D-4-metoxi triptófano metil éster protegido de acuerdo con la siguiente fórmula, a partir de un compuesto según la fórmula 1

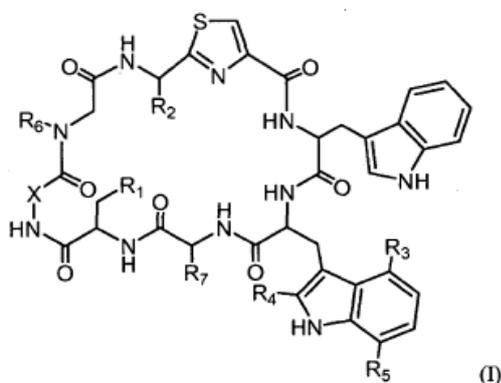


10 que comprende una hidrogenación asimétrica utilizando [1R,1R',2S,2S'-DuanPhos Rh(cod)]BF<sub>4</sub> como catalizador.

3. El procedimiento de acuerdo a la reivindicación 1 o 2 en el que el catalizador se prepara a partir de [Rh(cod)<sub>2</sub>]BF<sub>4</sub> y 1S,1S',2R,2R'-DuanPhos o 1R,1R',2S,2S'-DuanPhos respectivamente.

4. T El procedimiento de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el rendimiento cualitativo es al menos 97% ee, y más preferiblemente al menos 98% ee.

15 5. Un procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con la siguiente fórmula general (I)



en la que

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> que está sin sustituir o sustituido por OH, o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sup>3</sup> es hidrógeno, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> que está sin sustituir o sustituido por OH u OR, en el que R se selecciona de hidrógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, arilo o acetilo, o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>,

R<sup>4</sup> es hidrógeno, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> que está sin sustituir o sustituido por OH, o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

## ES 2 564 930 T3

R<sup>5</sup> es hidrógeno o halógeno;

R<sup>6</sup> es hidrógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>;

R<sup>7</sup> es hidrógeno o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> que está sin sustituir o sustituido por OH, o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>; y

X es C=CH<sub>2</sub> o CHR<sup>8</sup>, en el que R<sup>8</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> que está sin sustituir o sustituido por alquilo -S-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>,

- 5 y estereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, que comprende una síntesis de 4-metoxi-triptófano opcionalmente protegido de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.
6. El procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con la reivindicación 5, en el que dicha síntesis comprende una síntesis en fase sólida.
- 10 7. El procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, en el que dicha hidrogenación asimétrica se lleva a cabo bajo una presión de entre 1 y 100 bares, preferentemente entre 1 y 20 bares, más preferiblemente de 1 a 10 bares.
8. El procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en el que dicha hidrogenación asimétrica se lleva a cabo a una temperatura de entre 15 °C y 100 °C.
- 15 9. El procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que la hidrogenación asimétrica se lleva a cabo usando alcohol, y preferiblemente metanol, como disolvente.
10. El procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 9, en el que dicho compuesto macrociclo se selecciona de una argirina, como argirina A F, B / F, y Ala-alfa y Ala-beta, y estereoisómeros aislados de las mismas.
- 20 11. El procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, en el que la síntesis comprende la síntesis de péptidos en fase sólida.
12. Un procedimiento de producción una composición farmacéutica, que comprende el procedimiento de producción un compuesto macrociclo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, y mezclar dicho compuesto macrociclo junto con vehículo y / o excipientes farmacéuticamente aceptables.