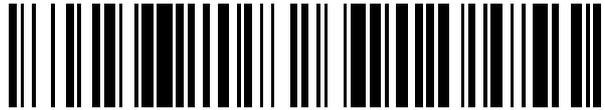


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 566 761**

51 Int. Cl.:

C07D 249/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.05.2003 E 10005413 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.01.2016 EP 2226316**

54 Título: **Ligación de azidas y acetilenos catalizada por cobre**

30 Prioridad:

30.05.2002 US 385041 P

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

15.04.2016

73 Titular/es:

**THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE (100.0%)
10550 NORTH TORREY PINES ROAD
LA JOLLA, CA 92037, US**

72 Inventor/es:

**SHARPLESS, BARRY K.;
FOKIN, VALERY;
ROSTOVSEV, VSEVOLOD;
GREEN, LUKE y
HIMO, FAHMI**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 566 761 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

Ligación de azidas y acetilenos catalizada por cobre

5 Campo Técnico de la Descripción

La invención se refiere a un proceso gradual de cicloadición de Huisgen catalizado por cobre (I). Más particularmente, la invención se refiere a una ligación regioselectiva de química de clic catalizada por cobre de azidas y alquinos terminales para formar triazoles.

10

Antecedentes

Las cicloadiciones 1,3-dipolares de Huisgen son procesos de fusión exergónicos que unen dos sustancias reaccionantes insaturadas (R. Huisgen, en 1, 3-Dipolar Cycloaddition Chemistry, (Ed.: A. Padwa), Wiley, Nueva York, 1984, pp. 1-176; y A. Padwa, in Comprehensive Organic Synthesis, (Ed.: B. M. Trost), Pergamon, Oxford, 1991, Vol. 4, pp 1069-1109). Para una revisión de las reacciones de cicloadición 1,3-dipolares asimétricas, véase K.V. Gothelf, et al., Chem. Rev. 1998, 98, 863-909. Para una revisión de aplicaciones sintéticas de cicloadiciones 1,3-dipolares, véase J. Mulzer, Org. Synth.

15

20

Highlights 1991, 77-95. Las cicloadiciones 1,3-dipolares de Huisgen proporcionan acceso rápido a una enorme diversidad de heterociclos de 5 miembros (a) W. -Q. Fan, et al., en Comprehensive Heterocyclic Chemistry//, (Eds.: A. R. Katritzky, et al.), Pergamon, Oxford, 1996, Vol. 4, pp. 101-126; b) R. N. Butler, en Comprehensive Heterocyclic Chemistry II, (Eds.: A. R. Katritzky, et al.), Pergamon, Oxford, 1996, Vol. 4, pp 621-678; y c) K. Banert, Chem. Ber. 1989, 122, 911-918). La cicloadición de azidas y alquinos para dar triazoles es, según se dice, el miembro más útil de esta familia (a) R. Huisgen, Pure Appl. Chem. 1989, 61, 613-628; b) R. Huisgen, et al., Chem. Ber. 1967, 100, 2494-2507; c) W. Lwowski, en 1, 3-Dipolar Cycloaddition Chemistry, (Ed.: A. Padwa), Wiley, Nueva York, 1984; Vol. 1, Capítulo 5; d) J. Bastide, et al., Bull. Soc. Chim. Fr. 1973, 2555-2579; 2871-2887).

25

30

No obstante, debido probablemente a problemas en cuanto a la seguridad de trabajo con las azidas orgánicas, los químicos especialistas en síntesis, tanto en campos puros como aplicados, no han concedido a esta transformación la atención especial que merece la misma. Aunque el paso real de cicloadición puede ser más rápido y/o más regioselectivo para dipolos 1,3 distintos de la azida, la última es con mucho la más conveniente para introducir y llevar oculta a lo largo de muchos pasos de síntesis. De hecho, la misma parece ser el único dipolo triatómico que está prácticamente exento de reacciones secundarias.

35

Las azidas aparecen sólo fugazmente en la síntesis orgánica, sirviendo como uno de los medios más fiables para introducir un sustituyente nitrogenado -R-X-? [R-N₃]-R-NH₂. El compuesto intermedio azida se representa entre corchetes porque el mismo se reduce por regla general inmediatamente a la amina. Aplicaciones que potencian la reactividad exclusiva ofrecida por el grupo azida propiamente dicho se describen por las referencias siguientes de los laboratorios de Aube, Banert, y Stoddart (a) P. Desai, et al., J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 7226-7232; b) K. Banert, Targets in Heterocyclic Systems 1999, 3, 1-32; K. Banert, Liebigs Ann. IRecl. 1997,2005-18; c) J. Cao, et al., J. Org. Chem. 2000,65, 1937-46, y las referencias citadas en dichos lugares. Aunque la química de las azidas puede ser peligrosa, el riesgo de trabajar con estos reactivos puede minimizarse empleando precauciones de seguridad apropiadas. Las azidas son químicamente importantes como grupo funcional crucial para la química de clic (H.C. Kolb, et al., Angew. Chem, Int. Ed. 2001, 40, 2004-2021). La singularidad de las azidas para los propósitos de química de clic es consecuencia de la estabilidad extraordinaria de estos reactivos frente a H₂O, O₂, y la mayoría de las condiciones de síntesis orgánica. De hecho, las azidas orgánicas, particularmente en la serie alifática, son excepcionalmente estables frente a los productos químicos reactivos comunes, que van desde dióxígeno y agua a las soluciones acuosas de moléculas orgánicas altamente funcionalizadas que constituyen las células vivas. (E. Saxon, et al., Science 2000,287, 2007-2010; y K. L. Kiick, et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002,99, 19-24). La naturaleza de muelle del grupo azida permanece invisible a no ser que se presente favorablemente un dipolarófilo satisfactorio. De hecho fue la ventana aguda de reactividad para este proceso de cicloadición lo que generó las ideas de "química de clic in situ" de los autores de esta invención - un enfoque que dio como resultado el descubrimiento del inhibidor más potente no covalente de acetilcolinesterasa conocido hasta la fecha (W.G. Lewis, et al., Angew. Chem, Int. Ed. 2002, 41, 1053-1057). Sin embargo, incluso entonces la cicloadición formadora de triazol deseada puede requerir temperaturas elevadas y, en cualquier caso, da usualmente como resultado una mezcla de los regioisómeros 1,4 y 1,5 (Fig. 1A), a no ser que el componente acetileno esté unido a un grupo sustractor de electrones tal como un carbonilo o perfluoroalquilo (J. Bastide, et al., Bull. Chim. Soc. Fr. 1973, 2294-2296; N. P. Stepanova, et al., Zh. Org. Khim. 1985, 21, 979-983; N. P. Stepanova, et al., Zh. Org. Khim. 1989, 25, 1613-1618; y D. Clarke, et al., J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 1997, 1799-1804).

40

45

50

55

60

Los esfuerzos para controlar este problema de regioselectividad 1,4 frente a 1,5 han logrado un éxito variable (P. Zanirato, J. Chem. Soc. Perkin Trans. 11991, 2789-2796; D. J. Hlasta, et al., J. Org. Chem. 1994,59, 6184-6189; C. A. Booth, et al., Tet. Lett. 1998,39, 6987-6990; S. J. Howell, et al., Tetrahedron 2001,57, 4945-4954; W. L. Mock, et al., J. Org. Chem. , 1989,54, 5302-5308; W. L. Mock Top. Curr. Chem. 1995, 175, 1-24; J. Chen, et al., Org. Lett.

65

2002, 4, 327-329; J. W. Wijnen, et al., Tet. Lett. 1995, 36, 5389-5392; P.f. Repasky, et al., Faraday Discuss. 1998, 110, 379-389).

En una comunicación, se consiguió la síntesis regioespecífica de peptidotriazoles catalizada por cobre (I) en disolventes orgánicos utilizando azidas libres y acetilenos terminales unidos a un soporte sólido. (C.V. Tornøe, et al., J. Org. Chem. 2002, 67, 3057). Las sustancias reaccionantes no eran equimolares. Una comunicación anterior describió la formación, en presencia de cobre (I), de un triazol, como un subproducto de rendimiento bajo, a partir de un reactivo bifuncional que tenía un grupo acetileno y una azida generada in situ (G. L'Abbe, Bull. Soc. Chem. Belg. 1984, 93, 579-592).

Sumario:

Un aspecto de la invención está dirigido a un proceso para catalizar una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol, realizándose la reacción de ligación química de clic en una solución en contacto con cobre metálico, actuando dicho cobre metálico como una fuente de Cu(I) catalítico para catálisis de la reacción de ligación química de clic.

En esta memoria se describe la reacción de ligación química de clic que está catalizada por una adición de Cu(II) en presencia de un agente reductor para reducir dicho Cu(II) a Cu(I), in situ, en cantidad catalítica. Agentes reductores preferidos incluyen ascorbato, cobre metálico, quinona, hidroquinona, vitamina K¹, glutatión, cisteína, Fe²⁺, Co²⁺, y un potencial eléctrico aplicado. Agentes reductores preferidos adicionales incluyen metales seleccionados del grupo constituido por Al, Be, Co, Cr, Fe, Mg, Mn, Ni, y Zn.

En un aspecto de la invención, una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol es catalizada por realización de la reacción de ligación química de clic en una solución en contacto con cobre metálico. El cobre metálico contribuye directa o indirectamente a la catálisis de la reacción de ligación química de clic. En un modo preferido, la solución es una solución acuosa. Las sustancias reaccionantes primera y segunda pueden estar presentes durante la reacción de ligación química de clic en cantidades equimolares. Asimismo, la reacción de ligación química de clic puede realizarse en una solución en contacto, al menos parcialmente, con una vasija de cobre.

Se describe en esta memoria una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol, que es catalizada por una adición de una cantidad catalítica de una sal metálica que tiene un ion metálico seleccionado del grupo constituido por Au, Ag, Hg, Cd, Zr, Ru, Fe, Co, Pt, Pd, Ni, Rh, y W. En un modo preferido de este aspecto de la invención, la reacción de ligación química de clic se realiza en presencia de un agente reductor para reducir dicho ion metálico a una forma catalíticamente activa. Agentes reductores preferidos incluyen ascorbato, quinona, hidroquinona, vitamina K, glutatión, cisteína, Fe²⁺, Co²⁺, un potencial eléctrico aplicado, y un metal seleccionado del grupo constituido por Al, Be, Co, Cr, Fe, Mg, Mn, Ni, y Zn.

Se describe también en esta memoria una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol que se realiza en una solución acuosa y está catalizada por una cantidad catalítica de cobre (I). En un modo preferido de este aspecto de la invención, las sustancias reaccionantes primera y segunda están presentes en cantidades equimolares.

En otro aspecto de la invención, una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol es catalizada por una cantidad catalítica de cobre (I) mientras que las sustancias reaccionantes primera y segunda están presentes en cantidades equimolares. En un modo preferido de este aspecto de la invención, la reacción de ligación química de clic se realiza en una solución acuosa.

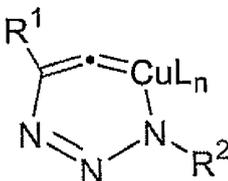
Se describe en esta memoria una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante y tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol que se realiza en una solución que contiene una cantidad catalítica de cobre (I). Sin embargo, en este caso, existe la salvedad de que la primera o segunda sustancia reaccionante es tóxica o cara y la sustancia reaccionante restante está presente en exceso molar.

Se describe en esta memoria una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol que se realiza en el interior de una célula. La célula es de un tipo que contiene una cantidad catalítica de cobre (I) suficiente para catalizar la reacción de ligación química de clic. El cobre (I) contribuye a una catálisis de la reacción de ligación química de clic.

Se describe en esta memoria una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y una segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol que se realiza en un disolvente que contiene una cantidad catalítica de un ion metálico. Los iones metálicos se seleccionan del grupo de metales constituido por Cu, Au, Ag, Hg, Cd, Zr, Ru, Fe, Co, Pt, Pd, Ni, Rh, y W definidos más estrechamente en las reivindicaciones. El ion metálico contribuye directa o indirectamente a una catálisis de la reacción de ligación química de clic. El ion metálico está coordinado a un ligando para solubilización de dicho ion metálico en el disolvente, para inhibición de la oxidación de dicho ion metálico, y para disociación, en su totalidad o en parte, de dicho ion metálico durante la catálisis de la reacción de ligación química de clic por dicho ion metálico. Un ligando preferido es acetonitrilo. Otro ligando preferido es un cianuro, nitrilo, o isonitrilo. Otro ligando preferido es agua. Otros ligandos preferidos incluyen nitrilo, isonitrilo, amina primaria, secundaria, o terciaria, un heterociclo nitrogenado, carboxilato, haluro, alcohol, tiol, sulfuro, fosfina, y fosfito.

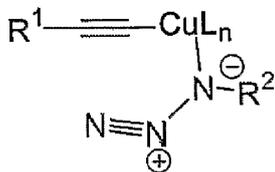
Otros ligandos preferidos son polivalentes e incluyen uno o más grupos funcionales seleccionados del grupo constituido por nitrilo, isonitrilo, amina primaria, secundaria o terciaria, un heterociclo nitrogenado, carboxilato, haluro, alcohol, tiol, sulfuro, fosfina, y fosfito.

Un compuesto intermedio reactivo para producir un producto que tiene un resto triazol se representa por la estructura cíclica de 6 miembros siguiente:



En la estructura anterior, R^1 es un sustituyente triazol en posición 4, R^2 es un sustituyente triazol en posición 1, L es un ligando Cu, y "n" es 1, 2, ó 3.

Un compuesto intermedio reactivo para producir un triazol se representa por la estructura cíclica de 6 miembros siguiente:



En la estructura anterior, R^1 puede emplearse como un sustituyente triazol en posición 4, R^2 puede emplearse como un sustituyente triazol en posición 1, L es un ligando Cu, y "n" es 1, 2, 3, ó 4.

Otro aspecto de la invención está dirigido a un proceso de dos pasos de derivatización de una molécula que contiene amina con un triazol. En el primer paso de este proceso, la molécula que contiene amina se derivatiza para formar un alquino terminal.

A continuación, el producto del primer paso se liga con una molécula que contiene azida por adición de la molécula que contiene azida en presencia de una cantidad catalítica de Cu para formar un derivado de triazol de la molécula que contiene amina.

Otro aspecto de la invención está dirigido a un proceso de un solo paso para producir un triazol polivalente. En este proceso, se derivatiza un núcleo de poliazida por adición de una molécula que tiene un alquino terminal en presencia de una cantidad catalítica de Cu.

Otro aspecto de la invención está dirigido a un proceso de un solo paso para producir un triazol polivalente. En este proceso, se derivatiza un núcleo de polialquino por adición de una molécula que tiene azida en presencia de una cantidad catalítica de Cu.

Breve Descripción de las Figuras

La Figura 1A ilustra una cicloadición de Huisgen de la técnica anterior no catalizada de azidas y alquinos terminales.

La Figura 1B ilustra una ligación regioselectiva catalizada por cobre de azidas y alquinos terminales.

La Figura 2 ilustra un mecanismo propuesto para la ligación gradual catalizada por cobre de azidas y alquinos terminales y compara este mecanismo con una cicloadición directa.

Las Figuras 3A y 3B ilustran una tabla que muestra la síntesis de [1,2,3]-triazoles disustituídos en 1,4 catalizada por Cu^{I} en presencia de ascorbato. Todas las reacciones se llevaron a cabo en agua con t-butanol como co-disolvente, 0,25-0,5 M en las sustancias reaccionantes, con 1% molar de CuSO_4 y 10% molar de ascorbato de sodio, y se completaron en 12-24 horas.

La Figura 4 ilustra la ligación regioselectiva catalizada por cobre de azidas y alquinos terminales empleando Cu^{0} .

La Figura 5 ilustra el uso de plasma humano como disolvente para la reacción. Para azida 100 mM y acetileno 200 mM, la reacción se completa en 12-24 horas. Para azida 2 mM y acetileno 4 mM la reacción se completa aproximadamente en un 80% después de 48 horas. Obsérvese que la reacción no es rechazada en plasma, sino que simplemente se ralentiza. A pesar de la concentración elevada de proteínas y la fijación de Cu a la proteína, la reacción transcurre satisfactoriamente.

La Figura 6 ilustra un procedimiento ilustrativo de dos pasos para derivatización de moléculas que contienen amina, v.g. eritromicina, con triazoles. El procedimiento puede aplicarse a cualquier molécula que contenga amina.

La Figura 7 ilustra un proceso de un solo paso que utiliza catálisis con Cu para derivatización de núcleos de poliazida a fin de producir triazoles polivalentes.

La Figura 8 ilustra un proceso de un solo paso que utiliza catálisis con Cu para derivatización de núcleos de polialquino a fin de producir triazoles polivalentes.

Descripción Detallada:

El proceso es experimentalmente simple y tiene un alcance muy grande. Si bien pueden utilizarse directamente varias fuentes de cobre (I) (véase más abajo), se describe que el catalizador se prepara mejor in situ por reducción de sales de Cu^{II} , que son menos caras y a menudo más puras que las sales de Cu^{I} ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ es muy adecuado).

Como el agente reductor, han demostrado ser excelentes ácido ascórbico y/o ascorbato de sodio, dado que los mismos hacen posible la preparación de un amplio espectro de productos de 1,4-triazol con rendimientos y pureza elevados para una carga de catalizador de 0,25-2% molar. Para una revisión de las reacciones de ácido L-ascórbico con metales de transición véase M. B. Davies Polyhedron 1992, 11, 285-321 y las referencias citadas en dicho lugar; las propiedades redox del ácido ascórbico se resumen en C. Creutz Inorg. Chem. 1981, 20, 4449. La reacción parece ser muy tolerante y no requiere precaución especial alguna. La misma transcurre hasta completarse en 6 a 36 horas a la temperatura ambiente en una diversidad de disolventes, que incluyen t-butanol o etanol acuosos y, lo que es muy importante, en agua sin co-disolvente orgánico alguno. Los materiales de partida no precisan estar disueltos en el disolvente de reacción. La reacción transcurre eficientemente con la condición de que se mantenga una agitación adecuada. Aunque la mayoría de los experimentos se llevaron a cabo a pH aprox. neutro, el catalizador parece proceder satisfactoriamente a valores de pH que van desde cerca de 4 a 12. El proceso catalítico es muy resistente e insensible a los parámetros de reacción usuales.

Es un aspecto de la invención que puede utilizarse también Cu^{0} como fuente de la especie catalítica. Aunque estas reacciones pueden requerir más tiempo para transcurrir hasta su culminación, el procedimiento experimental es muy simple. Por ejemplo, se obtuvo el bis-triazol representado en la entrada 2 (Figura 3A) con rendimiento cuantitativo después de agitación de los componentes azida y acetileno correspondientes durante 24 horas con aprox. 2 g de virutas de cobre metálico. Las virutas se retiraron al final de la reacción, y el producto blanco puro se recogió por filtración simple.

La reacción entre fenil-propargil-éter y bencilazida en presencia de 5% molar de ascorbato de sodio y 1% molar de sulfato de cobre (n) en una mezcla 2:1 agua/terc-butanol proporcionó el producto triazol 1,4-disustituído con rendimiento de 91% después de agitar durante 8 horas a la temperatura ambiente en un vial de centelleo con tapa, pero por lo demás sin esfuerzo alguno para excluir el oxígeno [eq. (2)]. La regioquímica del producto se estableció por experimentos NOE y se confirmó por el análisis cristalográfico de rayos X.

Para comparación, la reacción térmica (neta, 92°C, 18 horas) entre estos sustratos proporciona ambos regioisómeros en una ratio de 1,6:1 a favor del isómero 1,4, como se ilustra en la Figura 1A.

El alcance de esta síntesis de triazoles catalizada por cobre se revela parcialmente por los ejemplos de las Figuras 3A y B; obsérvese especialmente la ausencia de interferencia de grupos funcionales. Estos triazoles se obtienen utilizando un procedimiento que implica generalmente poco más que agitar los reactivos y separar por filtración los productos puros.

Azidas primarias, secundarias, terciarias, y aromáticas con diversos sustituyentes participan fácilmente en esta transformación. La tolerancia respecto a variaciones en el componente acetileno es también excelente.

5 Sales de cobre (I), por ejemplo Cu(I), CuOTf·C₆H₆ y [Cu(NCCH₃)₄]PF₆, pueden utilizarse también directamente en ausencia de un agente reductor. Estas reacciones requieren usualmente acetonitrilo como co-disolvente y un equivalente de una base nitrogenada (v.g. 2,6-lutidina, trietilamina, diisopropiletilamina, o piridina). Sin embargo, se observó a menudo la formación de subproductos indeseables, fundamentalmente diacetileno, bis-triazoles, y 5-hidroxitriazoles. Para un resumen reciente de las reacciones de complejos de cobre (I) con dióxígeno, véase S. Schindler Eur. J. Inorg. Chem. 2000, 2311-2326 y A. G. Blackman, W. B. Tolman en Structure and Bonding, B. Meunier, Ed., Springer-Verlag, Berlín, Heidelberg, 2000, vol. 97, p. 179-211. Esta complicación con el uso directo de especies de Cu^I se minimizaba cuando se utilizó 2,6-lutidina, y la exclusión de oxígeno mejoraba adicionalmente la pureza del producto y el rendimiento. Por ejemplo, propiolato de etilo y bencil-azida suministraban el 1,4-triazol correspondiente con 55% de rendimiento cuando se utilizó este procedimiento, pero se obtuvo sólo una cantidad traza del producto con 1 eq. de trietilamina y sin exclusión de oxígeno. Una amplia gama de ambos componentes acetileno y azida reaccionan fácilmente para el sistema de acetonitrilo.

Una propuesta mecanística para el ciclo catalítico se ilustra en la Figura 2. La misma comienza de manera ordinaria con la formación del acetiluro i de cobre (I) (G. van Koten, J. G. Noltes en Comprehensive Organometallic Chemistry, G. Wilkinson, Ed., vol. 2, cap. 14, Pergamon Press, 1982,720). Como podría esperarse, no se observa reacción alguna con los alquinos internos. Se da a conocer aquí que cálculos teóricos funcionales extensos de densidad ofrecen evidencia convincente que desaprueba sólidamente, aproximadamente en 12-15 kilocalorías, la cicloadición concertada [2+3] (B-directa) y apunta a una secuencia gradual, de reasociación (B1 → B2 → B3), que procede por la vía del compuesto intermedio iii de 6 miembros que contiene cobre iii (P.f. Doyle, et al., in Modern Catalytic Methods for Organic Synthesis with Diazo Compounds Wiley (Nueva York), 1997, 163-248). De ahí que se emplee en esta memoria el término 'ligación' para designar la cicloadición gradual [2+3] catalizada por cobre (I).

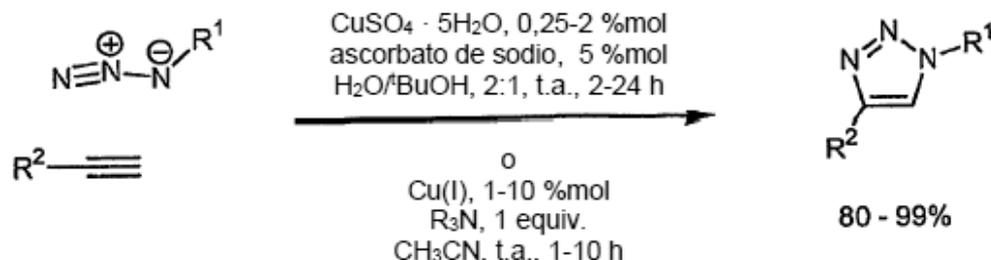
La transformación catalizada por Cu^I descrita en esta memoria – un proceso de 'fusión' de alto rendimiento y de realización simple que conduce a una conexión de triazol térmica e hidrolíticamente estable - es una adición ideal a la familia de reacciones de clic. El proceso exhibe un amplio alcance y proporciona productos de [1,2,3]-triazol disustituídos en 1,4 con rendimientos excelentes y regioselectividad cuasiperfecta. La reactividad de los acetiluros de cobre (I) con azidas orgánicas se da a conocer en esta memoria como eficazmente imparable.

Este nuevo proceso catalítico ofrece un nivel de selectividad, fiabilidad y alcance sin precedentes para aquellos entornos de síntesis orgánica que dependen de la creación de enlaces covalentes entre diversos bloques de construcción. Varios proyectos aplicados que ilustran las capacidades del proceso se representan en las Figuras 6-8.

Procedimiento Experimental. (No es parte de la presente invención)

40 Procedimiento general que se ilustra para la síntesis de 17-[1-(2,3-dihidroxiopropil)-1H-1,2,3]triazol-4-il]-estradiol. Se suspendieron 17-etinil-estradiol (888 mg, 3 mmol) y (S)-3-azidopropano-1,2-diol (352 mL, 3 mmol) en 12 mL de mixtura 1:1 agua/terc-butanol. Se añadió ascorbato de sodio (0,3 mmol, 300 µL de solución 1 M recién preparada en agua), seguido por sulfato de cobre (n) pentahidratado (7,5 mg, 0,03 mmol, en 100 µL de agua). La mixtura heterogénea se agitó enérgicamente durante una noche, llegado cuyo momento era clara y el análisis TLC indicaba el consumo completo de las sustancias reaccionantes. La mixtura de reacción se diluyó con 50 mL de agua, se enfrió en hielo, y el precipitado blanco se recogió por filtración. Después de lavar con agua fría (2 x 25 mL), el precipitado se secó a vacío para proporcionar 1,17 g (94%) de producto puro como un polímero blanquecino. P.f. 228-230°C. Análisis elemental calculado: C 64,02%, H 7,71%, N 9,74%; encontrado: C 64,06%, H 7,36%, N 9,64%.

50



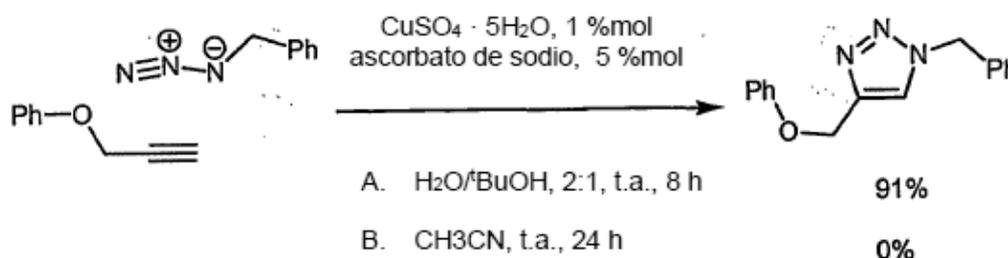
Efecto del ambiente reductor:

Cu(I) se oxida muy fácilmente a Cu(II) - fundamentalmente por acción del oxígeno, pero incluso oxidantes más suaves pueden realizar esto. Adicionalmente, Cu(I) media el acoplamiento oxidante de los acetiluros y otras especies de cobre orgánico, lo que conduce a rendimientos reducidos y productos contaminados. Todos estos problemas pueden soslayarse por el uso de un agente reductor suave. Pueden utilizarse diversos agentes reductores: ascorbato, hidroquinona, otras quinonas (tales como vitamina K₁), virutas/alambre de cobre, glutatión, cisteína, Fe²⁺, Co²⁺⁺, etc. Puede emplearse virtualmente cualquier reductor que no sea tan potente como para reducir rápidamente Cu(II) a Cu(0).

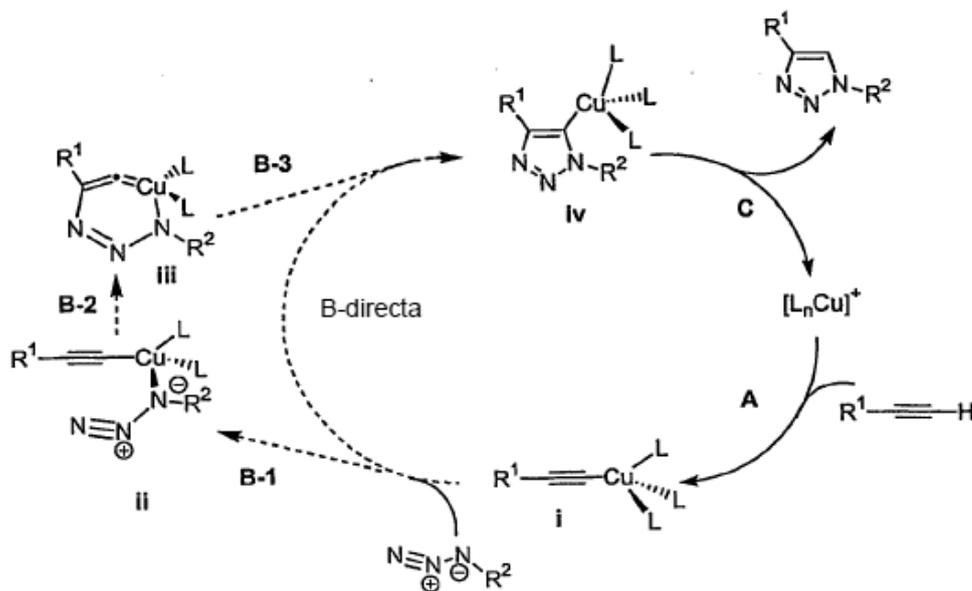
Ligandos: Efecto del acetonitrilo:

Los metales no existen en soluciones "desnudas" - existen siempre ligandos presentes en la esfera de coordinación, se trate de moléculas de disolvente o ligandos 'de diseño'. Los ligandos tienen un efecto profundo sobre la reactividad del centro metálico, así como las propiedades red/ox del metal: (a) aquéllos pueden estabilizar un determinado estado de oxidación del metal, v.g. Cu(I) es la forma deseable en el caso presente, y (b) de modo igualmente importante, pueden mantener la especie catalítica en la solución, haciendo con ello que la misma esté constantemente disponible para la catálisis. Ambos requerimientos citados tienen que cumplirse a fin de que una combinación metal/ligando sea útil en la catálisis de una cicloadición, o ligación de transformación deseada, en el caso presente.

Transformaciones orgánicas mediadas por cobre han sido estudiadas durante más de 70 años, y la bibliografía acerca de esta cuestión es muy extensa. Una lección importante de la técnica anterior es que los cianuros y/o nitrilos son algunos de los mejores ligandos para Cu(I), que usualmente está tetracoordinado, formando complejos tetraédricos. De hecho, el acetonitrilo se coordina con Cu(I) tan fuertemente que el complejo [Cu(CH₃CN)₄]⁺PF₆⁻ es una preparación de Cu(I) disponible comercialmente e insensible al oxígeno (es decir, este Cu(I) es inerte). Esta 'sobrestabilización' es claramente una desventaja cuando la meta es la reactividad. La reacción indicada a continuación ilustra este punto. Cuando se emplean mixturas agua/alcohol como disolventes (obsérvese que ambos son ligandos débiles para Cu(I)), la reacción se completa en menos de 6 horas. En cambio, cuando se utiliza como disolvente acetonitrilo, no se observa reacción alguna en absoluto incluso después de 24 horas en condiciones por lo demás idénticas.



35 Para explicar este fenómeno, recuérdese el mecanismo de la reacción. Con objeto de que transcurra la ligación, la azida tiene que coordinarse con el cobre (paso B1) y tiene que retirarse un ligando de la esfera de coordinación del metal, y en el caso de un acetonitrilo fuertemente coordinado, este paso es desventajoso.



Por tanto, con objeto de tener una ventana de reactividad útil, deberían seleccionarse o diseñarse ligandos tales que se fijen relativamente bien al metal, y mantengan el mismo en el estado de oxidación correcto y en solución (es decir no agregados hasta el punto de formar un precipitado polímero), pero que al mismo tiempo pueden separarse del centro metálico para permitir la formación del compuesto intermedio ii, lo cual es un paso necesario en la secuencia catalítica. Para usar este mismo ejemplo, la adición de una amina, tal como trietilamina o 2,6-lutidina al sistema de acetonitrilo arriba descrito, resuelve el problema de la reactividad - el producto se forma con rendimiento cuantitativo después de aprox. 8 horas.

Ligandos preferidos incluyen cianuros, nitrilos, isonitrilos, aminas primarias o secundarias, carboxilatos, haluros, alcoholes, y tioles. El cloruro es el haluro preferido y se emplea óptimamente a 1-5 M. Pueden emplearse también Los ligandos polivalentes que incluyen uno o más grupos funcionales seleccionados de nitrilo, isonitrilo, amina primaria o secundaria, carboxilato, alcohol, y tiol.

Otros Catalizadores Metálicos:

Cu no es el único metal capaz de catalizar este tipo de cicloadición. Con tal que se pueda formar el compuesto intermedio ii (es decir, si el metal está o puede llegar a estar coordinativamente insaturado), pueden emplearse también otros metales conocidos que forman acetiluros estables. Metales ilustrativos que pueden formar acetiluros estables incluyen Cu, Au, Ag, Hg, Cd, Zr, Ru, Fe, Co, Pt, Pd, Ni, Rh, y W. Es cuestión de encontrar la combinación metal/ligando adecuada. El cobre es singular entre otros metales debido a que está soportado tan satisfactoriamente en sistemas acuosos que da como resultado un procedimiento experimental muy simple y una tolerancia extraordinaria a los grupos funcionales.

Catálisis de la Reacción de Ligación por el Recipiente Metálico:

Pueden utilizarse también recipientes metálicos como fuente de la especie catalítica para catalizar la reacción de ligación. Por ejemplo, puede emplearse un recipiente de cobre (Cu) para catalizar la reacción. Con objeto de suministrar los iones necesarios, la solución de reacción tiene que establecer contacto físico con la superficie de cobre del recipiente. Alternativamente, la reacción puede ejecutarse en un recipiente no metálico, y los iones del metal catalítico pueden ser suministrados por contacto de la solución de reacción con un alambre de cobre, virutas de cobre u otras estructuras. Aunque estas reacciones pueden requerir más tiempo para llegar a su culminación, el procedimiento experimental es extraordinariamente simple. Por ejemplo, el bis-triazol representado en la entrada 2 (Figura 3A) se obtuvo con rendimiento cuantitativo después de agitar los componentes azida y acetileno correspondientes durante 24 h con aprox. 2 g de virutas de cobre metálico. Las virutas se retiraron al final de la reacción, y el producto blanco puro se recogió por filtración simple.

Agentes Reductores Alternativos:

Pueden emplearse metales como agentes reductores para mantener el estado de oxidación del catalizador Cu(I) o de otros catalizadores metálicos. Los agentes reductores metálicos preferidos incluyen Cu, Al, Be, Co, Cr, Fe, Mg,

Mn, Ni, y Zn. Alternativamente, puede emplearse un potencial eléctrico aplicado para mantener el estado de oxidación del catalizador.

Catálisis in Vivo:

5 La reacción transcurrió bien en plasma humano fresco (carga de proteínas 65-85 mg/mL, $C_{\text{azida}} = C_{\text{alquino}} = 5$ mM; $C_{\text{Cu}^{+}} = 100$ mM) y en sangre entera, lo que indicaba que las especies de cobre se mantenían disponibles para la catálisis a pesar de estar ligadas fuertemente a las proteínas del plasma, indicando también que la reacción de ligación puede ser catalizada por cobre y/u otros iones y plantillas metálicos(as) in vivo, incluso intracelularmente.

10 La reacción transcurre en plasma humano fresco e intracelularmente en sangre entera sin pérdida apreciable de conversión catalítica y sin precipitación apreciable de proteínas.

Sal de Cu(I) utilizada directamente:

15 Si se utiliza directamente una sal de Cu(I), no es necesario agente reductor alguno, pero debería utilizarse acetonitrilo o uno de los otros ligandos arriba indicados como disolvente a fin de prevenir la oxidación rápida de Cu(I) a Cu(II), y debería añadirse un equivalente de una amina (para acelerar la reacción que en otro caso es extremadamente lenta - véase arriba). En este caso, para rendimientos y pureza del producto mejores, debería
20 excluirse el oxígeno. Por tanto, el procedimiento de ascorbato (o cualquier otro reductor) se prefiere en muchos casos al procedimiento sin reductor. El uso de un agente reductor es simple en lo que respecta al procedimiento, y proporciona productos triazol con rendimientos excedentes y de pureza elevada.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un proceso que comprende el paso siguiente: catalizar una reacción de ligación química de clic entre una primera sustancia reaccionante que tiene un resto alquino terminal y segunda sustancia reaccionante que tiene un resto azida para formar un producto que tiene un resto triazol, realizándose la reacción de ligación química de clic en una solución en contacto con cobre metálico, actuando dicho cobre metálico como una fuente de Cu(I) catalítico para catálisis de la reacción de ligación química de clic.
- 10 2. Un proceso conforme a la reivindicación 1, en el que la solución es una solución acuosa.
3. Un proceso conforme a la reivindicación 1, en el que las sustancias reaccionantes primera y segunda están presentes durante la reacción de ligación química de clic en cantidades equimolares.
- 15 4. Un proceso conforme a la reivindicación 1, en el que la reacción de ligación química de clic se realiza en una solución en contacto, al menos en parte, con una vasija de cobre.

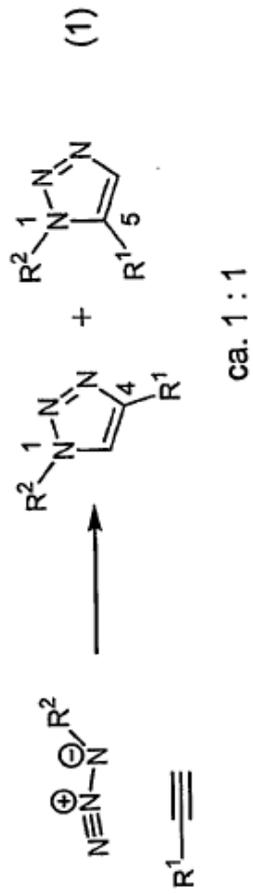


Figura 1A

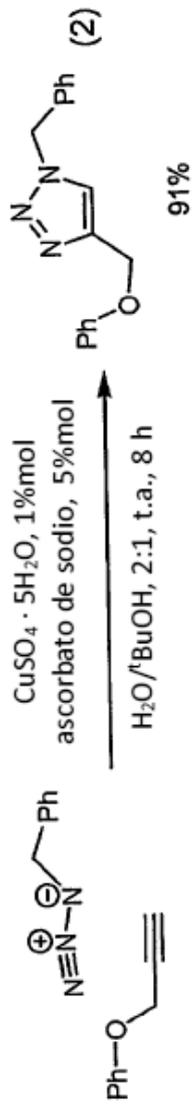


Figura 1B

FIGURA 2

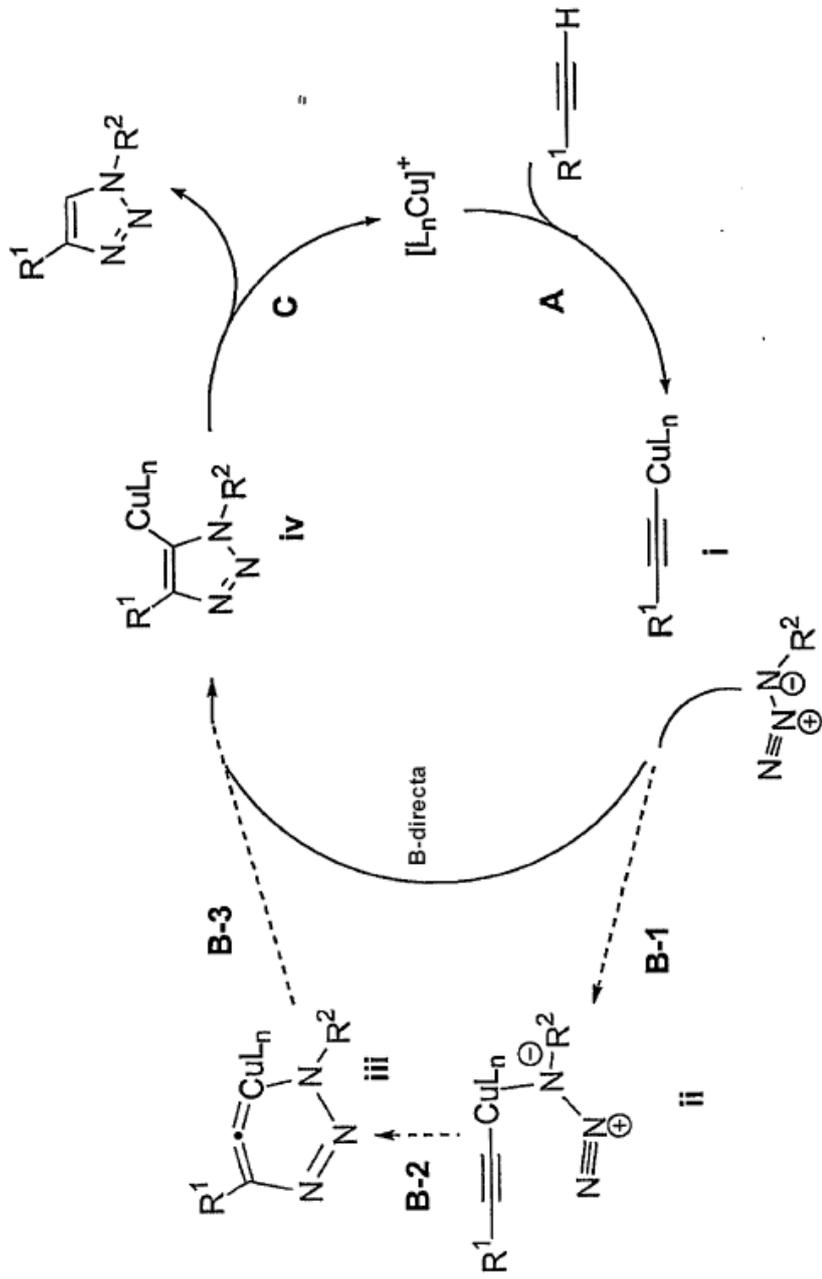


FIGURA 3A

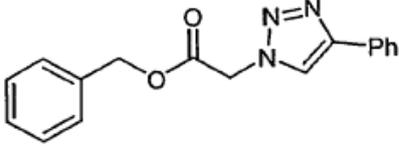
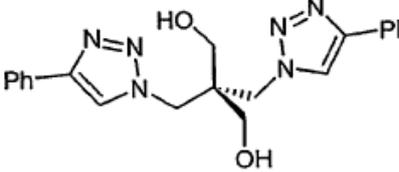
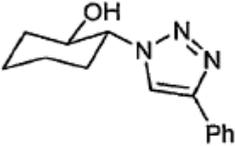
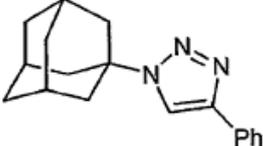
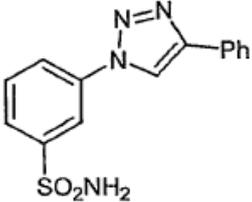
Entrada	Producto	Rendimiento, %
1		94
2		93
3		82
4		84
5		92

FIGURA 3B

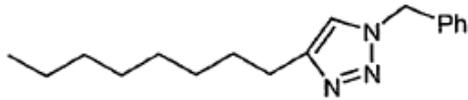
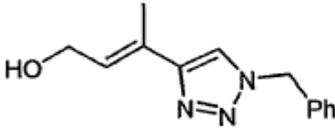
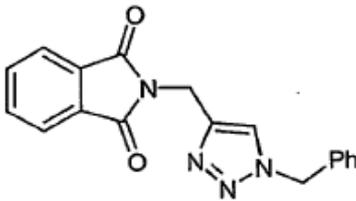
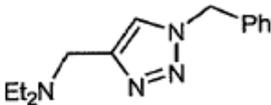
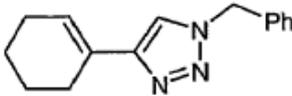
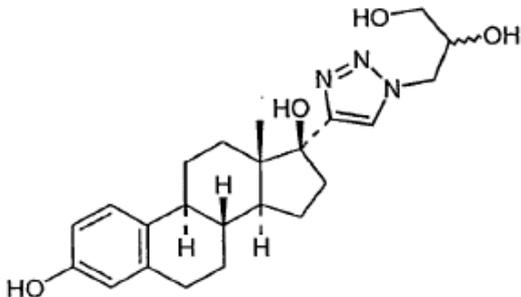
Entrada	Producto	Rendimiento, %
6		92
7		84
8		88
9		90
10		80
11		94

FIGURA 4

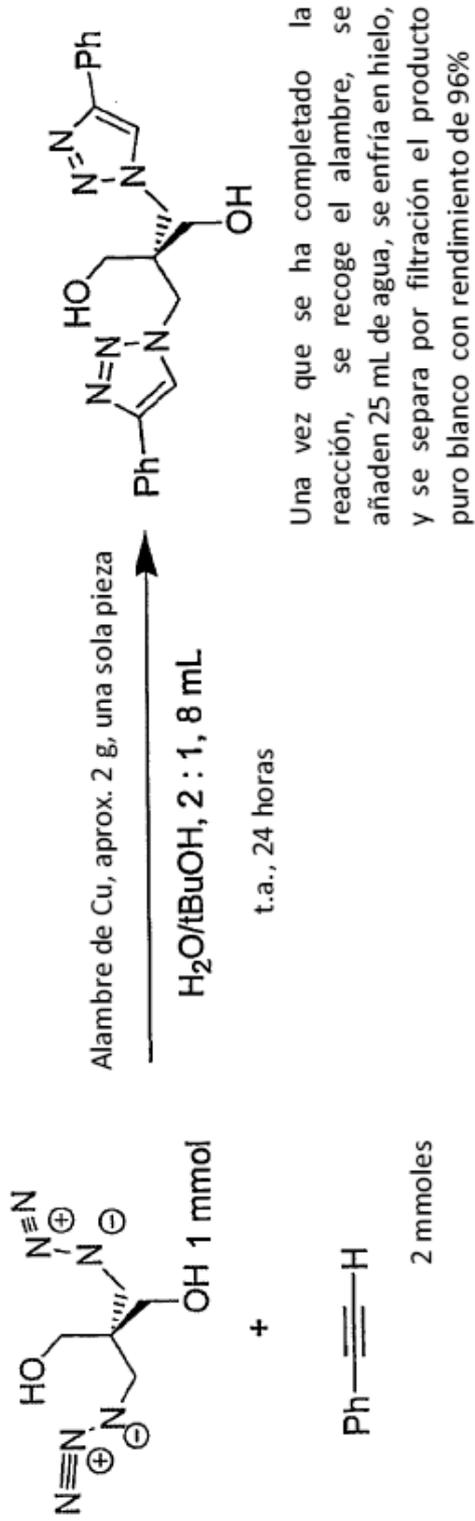
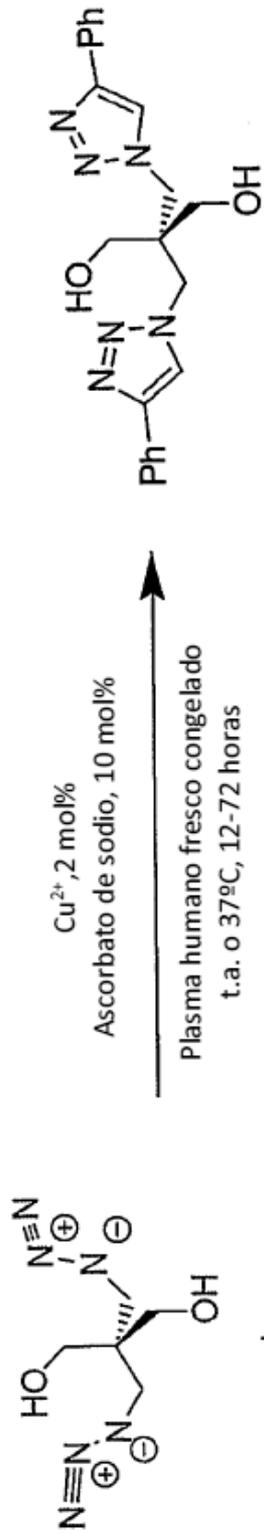
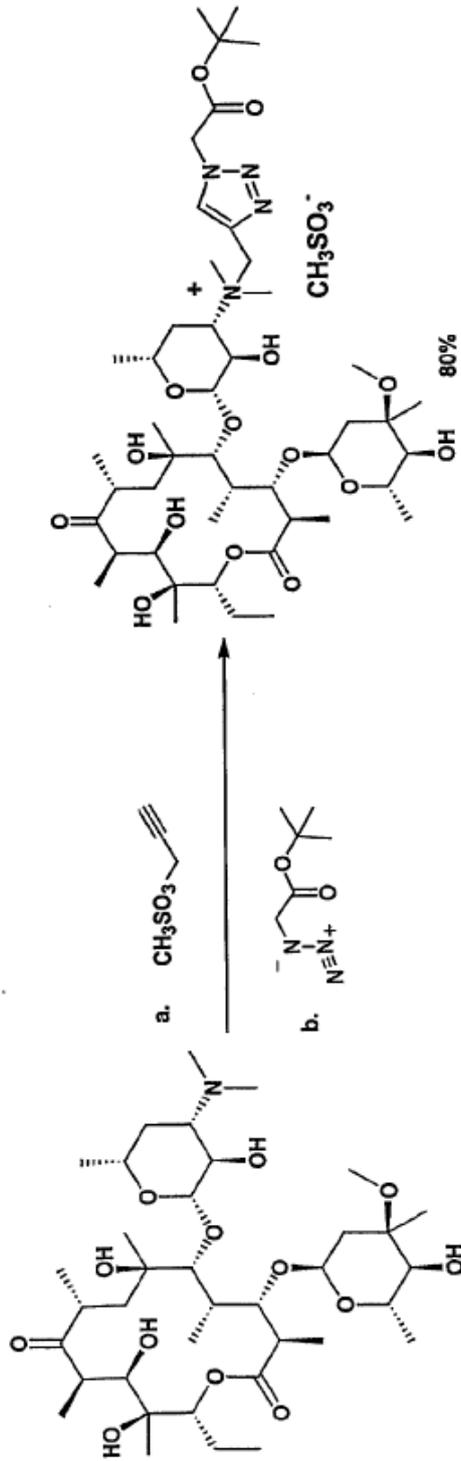


FIGURA 5



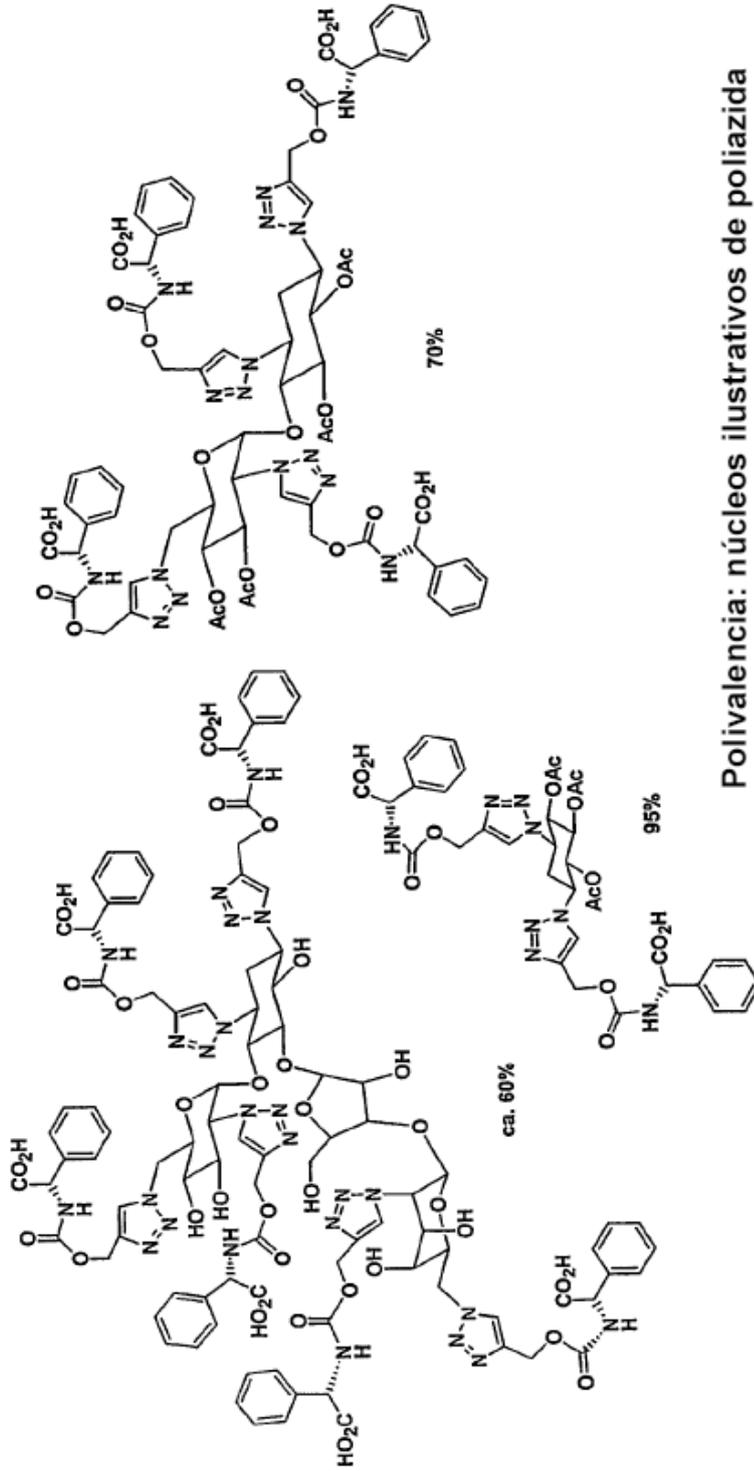
Plasma humano como disolvente

FIGURA 6



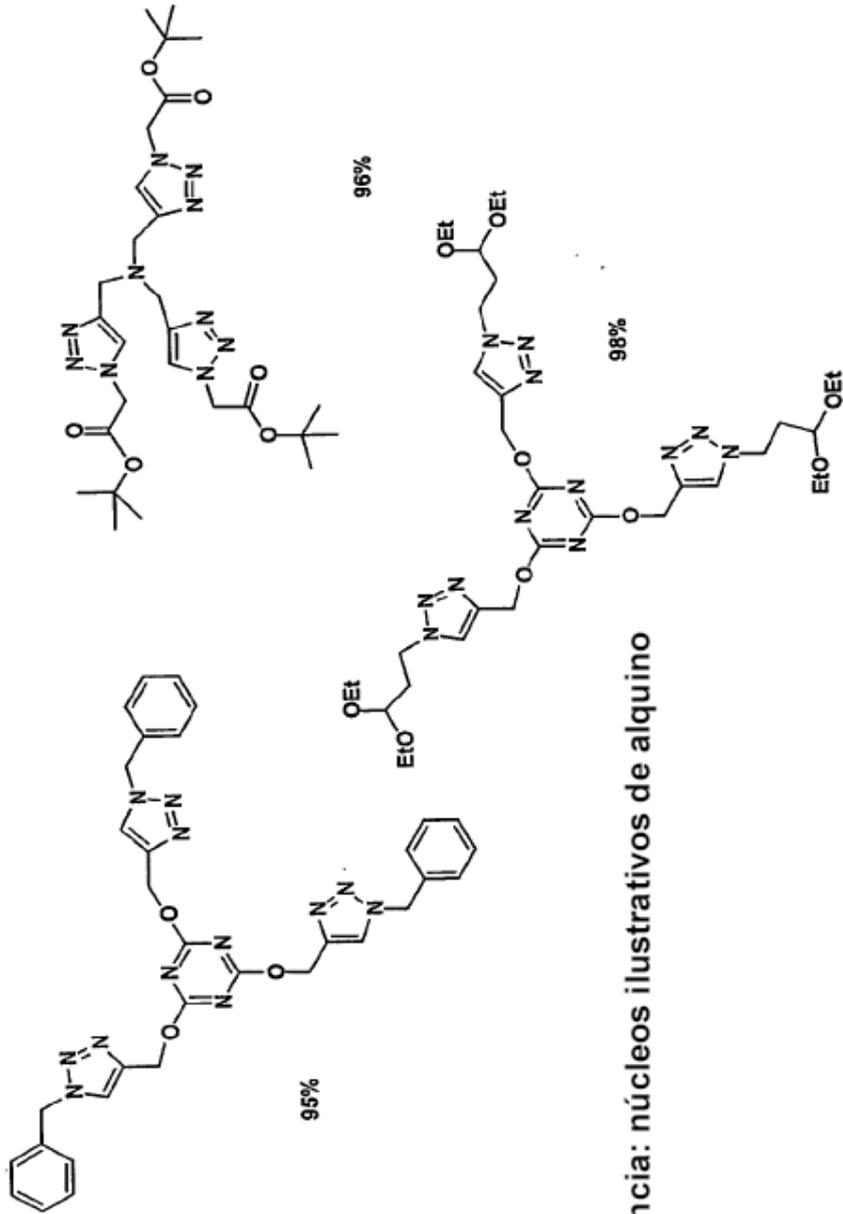
Derivatización fácil de moléculas complejas:
Eritromicina

FIGURA 7



Polivalencia: núcleos ilustrativos de poliazida

FIGURA 8



Polivalencia: núcleos ilustrativos de alquino