

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 083**

51 Int. Cl.:

C07K 1/30	(2006.01)	C07C 67/60	(2006.01)
B01D 9/00	(2006.01)	C07C 269/06	(2006.01)
C07C 39/10	(2006.01)	C07C 269/08	(2006.01)
C07C 41/16	(2006.01)	C07B 63/00	(2006.01)
C07C 43/23	(2006.01)	C07B 63/02	(2006.01)
C07C 227/18	(2006.01)	C07K 1/04	(2006.01)
C07C 227/42	(2006.01)	C07C 227/40	(2006.01)
C07C 51/09	(2006.01)		
C07C 51/44	(2006.01)		
C07K 5/083	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.09.2006 PCT/JP2006/318594**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **29.03.2007 WO07034812**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.09.2006 E 06798151 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.11.2016 EP 1927584**

54 Título: **Vehículo de separación, método de separación de un compuesto, y método de síntesis del péptido utilizando el vehículo**

30 Prioridad:

20.09.2005 JP 2005272905
01.02.2006 JP 2006024725
03.07.2006 JP 2006183688

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.06.2017

73 Titular/es:

JITSUBO CO., LTD. (100.0%)
2-24-16, NAKACHO
KOGANEI-SHI, TOKYO 184-8588, JP

72 Inventor/es:

CHIBA, KAZUHIRO;
KIM, SHOKAKU y
KONO, YUSUKE

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 615 083 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

Vehículo de separación, método de separación de un compuesto, y método de síntesis del péptido utilizando el vehículo

Campo técnico

5 La presente invención se refiere a un vehículo de separación y a un método de separación de un compuesto, concretamente un vehículo de separación que tiene tanto una propiedad para cambiar de forma reversible de un estado de fase líquida a un estado de fase sólida y cristalizarse de acuerdo con los cambios en la composición y/o temperatura de la solución, como la propiedad para extraerse de forma selectiva en una fase específica y/o cristalizarse de forma selectiva en una fase específica de acuerdo con los cambios en la composición y/o
10 temperatura de la solución, y a un método de separación de un compuesto utilizando el vehículo de separación.

Antecedentes de la técnica

15 Tradicionalmente, en los procesos químicos, se ha utilizado ampliamente un método para separar un ingrediente específico que se ha disuelto en un líquido como un sólido. Esto se debe a que la solidificación (cristalización) de únicamente un ingrediente específico permite que la separación y la purificación después de la reacción se realicen con facilidad. Este método, por ejemplo, en síntesis de múltiples etapas secuenciales, tales como síntesis de bibliotecas de compuestos o similares utilizados en el reciente desarrollo e investigación de fármacos, etc. permite que la sustancia solidificada (cristalizada) se separe y purifique con facilidad por solidificación (cristalización) de un compuesto necesario o innecesario después de la compleción de cada reacción. Por lo tanto, las complicaciones en el proceso de separación y/o purificación que han causado tradicionalmente problemas se pueden resolver.

20 Además, un método para realizar la separación de un ingrediente específico disuelto a partir de otros ingredientes también se utiliza disolviendo de forma selectiva el ingrediente específico en una fase específica (partición selectiva) de acuerdo con la separación de fases del líquido. Este método permite que un ingrediente específico sea separado sin solidificación (cristalización), contribuyendo de este modo a la aceleración y simplificación del proceso.

25 Dicha solidificación (cristalización) de un ingrediente específico disuelto en una solución o una disolución selectiva de un ingrediente específico en una fase del líquido específica (partición selectiva) puede realizarse mediante el cumplimiento de ciertas condiciones con respecto a las propiedades químicas y físicas del compuesto y la relación con un disolvente.

30 No obstante, las condiciones de solidificación (cristalización) y disolución selectiva (partición selectiva) han de ser examinadas empíricamente en la mayoría de los casos sobre la base de ensayo y error. Especialmente, en las síntesis de múltiples etapas secuenciales, resulta necesario examinar las condiciones de cada etapa en base a la propiedad específica de un compuesto sintetizado en cada etapa, habiendo requerido de esta manera enormes cantidades de dinero y tiempo para el desarrollo del proceso.

35 Por lo tanto, se ha propuesto una molécula transportadora que tiene un enlazador capaz de percibir sensiblemente la alteración de una composición disolvente a fin de cambiar de forma reversible el estado soluble y el estado insoluble (cristalización), o de disolver de forma selectiva un ingrediente disuelto específico en una fase específica con una alta concentración (partición selectiva) con la separación de fases del líquido. Dicha molécula transportadora puede unir diversos compuestos mediante el enlazador. Por lo tanto, el compuesto unido puede cambiar con facilidad estados con la molécula transportadora, desde un estado soluble a un estado insoluble (cristalización) o viceversa. Alternativamente, el compuesto unido a la molécula transportadora puede disolverse de
40 forma selectiva con una alta concentración en una fase específica del líquido separado en fases múltiples (partición selectiva).

45 Además, incluso cuando se altera la estructura química de un compuesto unido a dicho vehículo por la reacción de múltiples etapas secuenciales, la molécula transportadora es capaz de recrear de manera reversible el estado soluble y el estado insoluble (cristalizado) o disolverse en una fase específica del líquido separado en múltiples fases de forma selectiva con una alta concentración (partición selectiva) en aproximadamente las mismas condiciones.

50 Al utilizar dicha molécula transportadora capaz de cambiar de forma reversible el estado soluble y el estado insoluble (cristalizado) o inducir el estado de la partición selectiva, es posible separar de forma selectiva un compuesto objetivo de separación de un estado de solución homogénea mientras se utiliza el conocimiento general de la reacción en fase líquida en química Inorgánica. Es decir, ha sido posible separar un compuesto específico tras la reacción en fase líquida, dejando al mismo tiempo otros ingredientes solubles en solución.

Referente a un vehículo capaz de repetir de forma reversible el estado soluble y el estado insoluble, por ejemplo, se conoce un método para utilizar un polímero soluble en disolventes, tal como poli(etilenglicol) (véase el documento no

patente 1).

Documento no patente 1: "*Liquid-phase combinatorial synthesis*" Hyunsoo Han, Mary M. Wolfe, Sydney Brenner, y Kim D. Janda, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE. UU.*, vol. 92, págs. 6419-6423, julio de 1995, *Chemistry*.

5 Los documentos EP 0 421 848 y US 5.712.367 desvelan un proceso de preparación de péptidos solubles en un disolvente orgánico inmiscible en agua, que comprende ligar un grupo lipófilo con un enlace amida o éster al grupo carboxilo terminal de ese péptido. También se describe un proceso para la síntesis de péptidos, opcionalmente protegidos, en un medio líquido, en el que el material de partida es un aminoácido o péptido solubilizado en un medio orgánico por un grupo A-L lipófilo ligado a la función carboxilo del aminoácido o péptido de partida, y que se le añade los aminoácidos o los péptidos a condensar activados en su función ácida, protegidos en su función amina y
10 opcionalmente protegidos en su cadena lateral.

M. Mizuno *et al.*, desvelan en *tetrahydron letters* 45 (2004), 3425-3428, soportes fluorosos para la síntesis peptídica sintetizada y utilizada para preparar un péptido que tiene un COOH C-terminal en base a la química fluorosa.

15 El documento GB 1 464 938 hace referencia a un proceso para la preparación de un péptido que comprende condensar un aminoácido o péptido adecuadamente protegido con el grupo amino libre de un aminoácido o péptido protegido adecuadamente de otro modo que está unido a un homopolímero monoacilado o monoalquilado no sustituido de etilenglicol o propilenglicol o copolímero de etilenglicol y propilenglicol, a través de un enlace éster formado a partir de un grupo carboxilo del aminoácido o péptido, el homopolímero o copolímero tiene un peso molecular en el intervalo comprendido entre 2.000 y 40.000, que cristaliza el complejo peptídico/polimérico resultante a partir de un disolvente orgánico o una mezcla de dos o más disolventes orgánicos, y divide el péptido del complejo.

20 **Divulgación de la invención**

Problemas a resolver por la invención

No obstante, cuando se utiliza un polímero tal como poli(etilenglicol) desvelado en la publicación no patente 1 como vehículo, fue difícil evaluar un compuesto por análisis estructural, etc., debido a la heterogeneidad del polímero mientras el compuesto se une al vehículo. Además, existían problemas de manipulación complicada asociados con la dificultad en la realización de la reacción anhidra debido a la hidrofilia del poli(etilenglicol).
25

Además del uso de una molécula transportadora capaz de cambiar de forma reversible el estado soluble y el estado insoluble (cristalizado) o inducir el estado de partición selectiva, se conocen varios métodos de extracción en fase sólida que utilizan partículas transportadoras sólidas como el método de separación diferente del compuesto. En el método de extracción en fase sólida, por ejemplo, uniendo de forma específica una molécula ligando que tiene una alta afinidad a una molécula sonda, que se ha unido previamente de manera química a la superficie de vehículos en fase sólida, tales como gel de sílice, polímero poroso, alúmina y carbón activo, la molécula ligando se separa de forma diferencial de otras moléculas. Por medio de este método, es fácil realizar un proceso para separar una sustancia capturada por la fase sólida de una sustancia que permanece disuelta en una fase líquida, y además, es posible manejar muchas muestras en poco tiempo y también obtener datos apropiados reproducibles sin requerir la habilidad del experto, por lo que el método puede estandarizarse con facilidad mediante dispositivos automatizados, etc.
30
35

No obstante, en el método de extracción en fase sólida que utiliza partículas transportadoras sólidas, las moléculas distintas de la molécula que se une específicamente a la molécula ligando pueden adsorberse de manera no específica en la superficie sólida, causando la reducción de la precisión de la separación. Además, con el fin de liberar el compuesto capturado a la superficie del vehículo en fase sólida de nuevo, se requirió realizar tratamientos específicos, tales como tratamiento químico, tratamiento bioquímico, irradiación con luz y aplicación de estímulos eléctricos. Por lo tanto, a pesar de que era fácil capturar el compuesto objetivo de la fase líquida, ha de realizarse un proceso complicado en la etapa para separar el compuesto objetivo de la fase sólida.
40

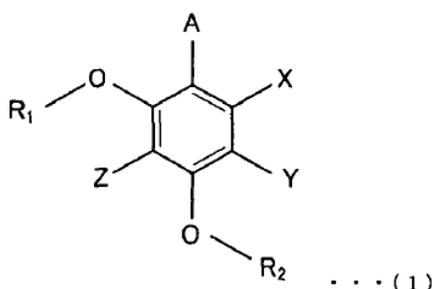
La presente invención se ha realizado en vista de los problemas descritos previamente, y un objetivo de esta invención es proporcionar un vehículo de separación y un método de separación de un compuesto que permite realizar una reacción química en una fase líquida, separar el compuesto específico de una fase líquida con facilidad tras la compleción de la reacción, evaluar el compuesto separado por análisis estructural o similar, mientras el compuesto se une al vehículo, y además, separar con facilidad el compuesto del vehículo.
45

Medios para resolver los problemas

50 Los presentes inventores han realizado fervientemente una investigación para resolver los problemas antes mencionados. Como resultado, han descubierto que los problemas anteriormente mencionados pueden resolverse si un vehículo de separación tiene un sitio de reacción capaz de unirse a otros compuestos en un anillo de benceno, y

un grupo de cadena larga que tiene un número especificado o más de átomos de carbono en cada una de las posiciones orto y en cada una de las posiciones para del sitio de reacción a través de un átomo de oxígeno, respectivamente, logrando de esta manera la presente invención. Concretamente, la presente invención proporciona los siguientes artículos.

- 5 De acuerdo con un primer aspecto de la presente invención, un vehículo de separación representado por la siguiente fórmula química (1) que tiene un sitio de reacción A para una unión con un compuesto que va a separarse, en el que el sitio de reacción A se une al compuesto que va a separarse por medio de uno cualquiera del conjunto seleccionado entre el grupo que consiste en un átomo de oxígeno, un átomo de azufre y un átomo de nitrógeno para separar el compuesto que va a separarse;
- 10 el vehículo de separación es aquel que va a extraerse de forma selectiva y/o cristalizarse de forma selectiva en una fase específica de acuerdo con un cambio en la composición y/o en la temperatura de una solución en la que el vehículo de separación se disuelve cuando el compuesto que va a separarse se une al vehículo de separación;



- 15 en la que A es un grupo que contiene un grupo hidroxilo, un grupo tiol o un grupo amino capaz de unirse con un aminoácido;
X, Y y Z son hidrógenos;
R₁ y R₂, que pueden ser idénticos o diferentes, son grupos hidrocarbonados que tienen un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 14 y 30.

- 20 El vehículo de separación permite realizar una reacción química en una fase líquida, reaccionar un compuesto específico contenido en una fase líquida tras la compleción de la reacción y unido al sitio de reacción A, y separar de forma selectiva otros compuestos de una fase líquida. Por consiguiente, el compuesto objetivo puede separarse de manera eficiente con alta pureza.

- 25 Además, puesto que el vehículo de separación de acuerdo con el primer aspecto no es un polímero, sino un compuesto simple, permite que se evalúe el compuesto separado por análisis estructural o similar, mientras el compuesto se une al vehículo. Por consiguiente, la identificación del compuesto puede realizarse sin llevar a cabo el proceso de separación, por lo que es posible acortar el tiempo requerido para la identificación del compuesto y fomentar la investigación.

- 30 Además, el vehículo de separación de acuerdo con el primer aspecto permite separar un compuesto reaccionado y unido al sitio de reacción A del vehículo con facilidad. En consecuencia, el compuesto objetivo puede obtenerse eficientemente en un tiempo menor en comparación con el caso de la realización de complicados procesos tradicionales, tales como tratamiento químico, tratamiento bioquímico, irradiación con luz y aplicación de estímulos eléctricos.

- 35 Además, el vehículo de separación puede recrear de forma reversible el estado soluble y el estado insoluble (cristalizado) o disolverse en una fase específica del líquido separado en múltiples fases de forma selectiva con una alta concentración en aproximadamente las mismas condiciones, incluso cuando cambie la estructura química de otros compuestos unidos al sitio de reacción A por las reacciones químicas secuenciales. Por lo tanto, no es necesario investigar las condiciones de separación en base a las características específicas, etc. de los respectivos compuestos.

- 40 Además, el vehículo de separación incluye grupos hidrocarbonados con un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 14 y 30 de manera que contenga un grupo alquilo de cadena larga. Por consiguiente, el vehículo de separación de acuerdo con el primer aspecto exhibe hidrofobicidad y puede disolverse en muchos disolventes orgánicos con una alta concentración. Por lo tanto, el vehículo de separación de acuerdo con el primer aspecto puede aplicarse ampliamente sin seleccionar el tipo de líquido en el que se disuelve el compuesto objetivo.

- 45 El número de carbonos del grupo hidrocarbonado oscila en el intervalo comprendido entre 14 y 30, preferentemente en el intervalo comprendido entre 16 y 30, y más preferentemente en el intervalo comprendido entre 18 y 30.

Siempre que el número de carbonos se encuentre dentro del intervalo descrito anteriormente, puede exhibirse una hidrofobicidad suficiente, y el intervalo de elección de los disolventes orgánicos es amplio.

5 Además, en el vehículo de separación que se muestra en la fórmula (1), X, Y y Z en el anillo de benceno son hidrógenos. Por lo tanto, el vehículo de separación será suficientemente eficaz como vehículo de separación incluso cuando siga teniendo un átomo de hidrógeno no sustituido.

Puesto que el vehículo de separación tiene varios efectos, como se ha descrito previamente, no solo permite que el proceso se desarrolle con facilidad, sino que también permite, por ejemplo, fomentar la investigación y el desarrollo de fármacos, etc., por la síntesis de bibliotecas de compuestos o similares, a fin de poder contribuir con el tiempo a la innovación técnica en la industria química y en la industria bioquímica.

10 Además, el vehículo de separación es capaz de cambiar de forma reversible de un estado en fase líquida a un estado en fase sólida, y cristalizarse o solidificarse mientras el vehículo se une con el otro compuesto de acuerdo a los cambios en la composición y/o en la temperatura de la solución en la que el vehículo de separación se disuelve o la fase líquida en la que el vehículo de separación se funde.

15 El vehículo de separación incluye grupos hidrocarbonados con un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 14 y 30, de manera que contenga un grupo alquilo de cadena larga. Ya que un grupo alquilo de cadena larga muestra hidrofobicidad, esto permite al vehículo de separación disolver numerosos disolventes y al mismo tiempo permite al vehículo de separación cristalizarse con facilidad mediante la adición de un disolvente de alta polaridad.

20 Por lo tanto, el vehículo de separación permite solo cristalizar o solidificar el compuesto específico objetivo acompañado con el vehículo, mientras los ingredientes que no sean el compuesto objetivo se dejan en una fase líquida cambiando la composición y/o la temperatura de la solución en la cual se disuelve el vehículo o la fase líquida en la que se funde el vehículo. El vehículo de separación acompañado con otro compuesto, ya sea cristalizado o solidificado, puede separarse con facilidad de la fase líquida por filtración, etc., de modo que puede evitarse un complejo proceso de escisión.

25 El vehículo de separación permite que el compuesto objetivo se evalúe por análisis estructural o similar sin separar el compuesto objetivo del vehículo mientras el compuesto se une al vehículo. Por lo tanto, la evaluación de un compuesto por análisis estructural o similar puede realizarse sin pasar por el proceso para separar el compuesto del vehículo, de modo que en la escena de la investigación y el desarrollo, el tiempo requerido se puede acortar a fin de fomentar los mismos.

30 El vehículo de separación de acuerdo con la presente invención se extrae de forma selectiva y/o se cristaliza de forma selectiva en una fase específica de acuerdo con los cambios en la composición y/o en la temperatura de una solución en la que el vehículo de separación se disuelve, mientras el vehículo se une a otro compuesto.

35 El vehículo de separación es un vehículo que permite que el vehículo se extraiga de forma selectiva (como un líquido) y/o se cristalice de forma selectiva en una fase específica de múltiples fases tras la unión del compuesto objetivo al vehículo mientras el compuesto se une a este. Por consiguiente, solo el compuesto específico objetivo puede separarse mientras los ingredientes solubles en otra fase líquida a la del compuesto objetivo se dejan en la otra fase líquida, de modo que puede evitarse el complejo proceso de escisión.

Cuando el vehículo de separación es aquel cristalizado de forma selectiva en una fase específica, este permite realizar el análisis estructural tal como está sin separar el compuesto objetivo del vehículo.

40 En la presente memoria descriptiva se describe asimismo un vehículo de separación en el que el vehículo de separación es capaz de cambiar de forma reversible de un estado en fase líquida a un estado en fase sólida de acuerdo con los cambios en la composición y/o en la temperatura de la solución en la que el vehículo de separación se disuelve o la fase líquida en la que el vehículo de separación se funde, y unirse con el otro compuesto en un estado de fase sólida.

45 El vehículo de separación de acuerdo con el aspecto anterior es aquel que cambia de forma reversible de un estado líquido a un estado sólido de acuerdo con los cambios en la composición y/o en la temperatura de la solución antes de la unión de otro compuesto, capturando posteriormente el otro compuesto por la unión al vehículo de separación que se ha transformado al estado de fase sólida con el fin de realizar la llamada extracción en fase sólida.

50 Debido a la extracción de estado sólido, el vehículo de separación de acuerdo con el aspecto anterior permite que el proceso de separación del vehículo en fase sólida que ha capturado un compuesto por su unión al mismo de la fase líquida se realice con facilidad, y posteriormente, permite que el proceso de separación del compuesto del vehículo también pueda llevarse a cabo de forma simple.

5 En aspecto adicional de la presente invención, un método de separación de un compuesto incluye un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación como se define en la presente memoria en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora; un primer proceso de unión para unir otro compuesto al sitio de reacción A del vehículo de separación; un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo de separación mientras el otro compuesto se une al vehículo; o un proceso de selección para extraer de forma selectiva y/o cristalizar de forma selectiva el vehículo de separación en una fase específica mientras el otro compuesto se une al vehículo.

10 El método para separar un compuesto es un método de separación para realizar la cristalización o extracción después de la unión del compuesto objetivo a un vehículo utilizando el vehículo de separación de la presente invención. El método para separar un compuesto incluye tanto un caso para solidificar (cristalizar) el vehículo en una única fase líquida, mientras el compuesto se une al vehículo, como un caso para extraer de forma selectiva (como un líquido) y/o cristalizar de forma selectiva el vehículo en una fase específica entre múltiples fases líquidas mientras el compuesto se une al mismo.

15 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto permite que el compuesto específico se cristalice o se extraiga de forma selectiva. Por lo tanto, solo el compuesto objetivo específico puede separarse mientras el ingrediente o los ingredientes solubles en la fase líquida distintos al compuesto objetivo es dejado/son dejados en la fase líquida, evitando así los complejos procesos de separación.

20 Además, cuando el vehículo se separa por cristalización mediante el método de separación de acuerdo con el aspecto anterior mientras el vehículo se acompaña con el compuesto objetivo, el análisis estructural puede realizarse tal como es sin separar el compuesto objetivo del vehículo. Por lo tanto, la confirmación del compuesto obtenido puede realizarse sin pasar por el proceso para separar el compuesto tras la cristalización, de modo que en la escena de investigación y desarrollo, el tiempo requerido puede acortarse para fomentar la investigación.

25 Por lo tanto, el método para separar un compuesto de acuerdo con el aspecto anterior es capaz de convertirse en una técnica innovadora en la separación y purificación de sustancias bioquímicas, búsqueda de sustancias candidato a fármaco, y constitución de nuevos métodos de reacción química sintética y método de síntesis continua peptídica, etc.

30 En un aspecto adicional de la presente invención, un método para separar un compuesto incluye un proceso de fusión para licuar el vehículo de separación de acuerdo con el aspecto anterior mediante un calentamiento por encima del punto de fusión del mismo; un proceso de reacción para unir otro compuesto al sitio de reacción A del vehículo licuado de separación mediante una reacción con el mismo; y un proceso de solidificación para solidificar el vehículo de separación mientras el otro compuesto se une al mismo.

El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es un método de separación para licuar el propio vehículo de separación de la presente invención sin necesidad de disolvente, y solidificar el vehículo tras unir el compuesto objetivo al vehículo licuado de separación.

35 El método para separar un compuesto de acuerdo con el aspecto anterior permite que el compuesto específico se una de forma selectiva al mismo y se separe del mismo. Dado que puede evitarse, en el método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto, el vehículo de separación se encuentra en una fase sólida (solidificada), solo el compuesto objetivo específico puede separarse con facilidad, evitando de este modo un complejo proceso de separación. Además, el método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto permite que el compuesto objetivo se evalúe por análisis estructural, etc., mientras el compuesto se une al vehículo.

40 De acuerdo con un aspecto adicional, el método para separar un compuesto de acuerdo con el aspecto anterior incluye además, tras el proceso de solidificación, un proceso de lavado para lavar el vehículo de separación con un disolvente deficiente en el que la solubilidad del vehículo solidificado de separación es baja, mientras el otro compuesto se une al mismo y/o un proceso de extracción para extraer de forma selectiva el vehículo de separación en un disolvente específico mientras el otro compuesto se une al mismo.

45 El método para separar un compuesto de acuerdo con el aspecto anterior es un método que incluye un proceso para lavar un compuesto complejo en el que el vehículo solidificado de separación de la presente invención se une al compuesto específico objetivo con un disolvente deficiente y/o un proceso para extraer de forma selectiva el compuesto complejo en un disolvente específico. Mediante este método, puede aumentarse la pureza del compuesto complejo del vehículo de separación y el compuesto específico obtenido en el proceso posterior.

50 De acuerdo con un aspecto adicional, el método para separar un compuesto incluye, tras el primer proceso de unión o el proceso de reacción, un segundo proceso de unión para unir adicionalmente otro compuesto al otro compuesto que se ha unido al sitio de reacción A del vehículo de separación.

- 5 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es aquel que incluye un proceso para unir otro compuesto al otro compuesto unido al sitio de reacción A del vehículo de separación. El vehículo de separación de la presente invención es capaz de recrear de forma reversible el estado soluble y el estado insoluble (cristalizado) o disolverse en una fase específica de un líquido separado en múltiples fases de forma selectiva con una alta concentración (partición selectiva) en sustancialmente las mismas condiciones, incluso cuando la estructura química del otro compuesto unido cambie por las reacciones químicas secuenciales. Por lo tanto, una pluralidad de otros compuestos puede unirse químicamente en secuencia al sitio de reacción A del vehículo de separación de la presente invención como punto de origen.
- 10 De acuerdo con un aspecto adicional, un método de separación de un compuesto incluye un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación como se define en la presente memoria en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora; un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo de separación; y un proceso de captura para capturar el otro compuesto uniendo el mismo al sitio de reacción A del vehículo cristalizado de separación.
- 15 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es un método de separación para capturar el compuesto objetivo mediante la unión de este al vehículo utilizando el vehículo de separación de la presente invención una vez cristalizado (solidificado) el vehículo de separación. Por lo tanto, el método de separación de un compuesto de acuerdo con este aspecto se utiliza principalmente en el caso para solidificar (cristalizar) el vehículo en una única fase líquida.
- 20 Este método para separar un compuesto permite que el compuesto específico objetivo sea capturado de forma selectiva en la fase sólida. Por lo tanto, solo el compuesto específico objetivo puede separarse mientras los ingredientes que no son el compuesto objetivo soluble en la fase líquida se dejan en la fase líquida, evitando de este modo un complejo proceso de escisión.
- 25 Además, el método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto permite realizar un análisis estructural, etc., tal como es sin separar el compuesto objetivo del vehículo. Por lo tanto, la confirmación, etc. del compuesto obtenido puede realizarse sin pasar por el proceso para separar el compuesto, de modo que en la escena de investigación y desarrollo, el tiempo requerido puede acortarse para fomentar la investigación.
- 30 Por lo tanto, este método para separar un compuesto es capaz de convertirse en una técnica innovadora en la separación y purificación de sustancias bioquímicas, búsqueda de sustancias candidato a fármaco, y constitución de nuevos métodos de reacción química sintética y métodos de síntesis continua peptídica, etc.
- 35 De acuerdo con un aspecto adicional, el método para separar un compuesto incluye además un proceso de escisión para separar otro compuesto del vehículo de separación unido con el otro compuesto tras el proceso de cristalización, el proceso de selección, el proceso de solidificación, el proceso de extracción, o el proceso de captura.
- 40 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto incluye un proceso para separar el compuesto acompañado con el vehículo de separación del vehículo. Al separar el compuesto del vehículo, el compuesto objetivo preparado por síntesis, etc. puede obtenerse como un único compuesto. Además, el vehículo de separación también puede reutilizarse posteriormente tras la separación del compuesto.
- 45 Según un aspecto adicional, el método para separar un compuesto incluye además un proceso para eliminar las impurezas de una solución en la que el vehículo de separación se disuelve o una fase líquida en la que el vehículo de separación se funde antes del proceso de cristalización, el proceso de selección, el proceso de solidificación, el proceso de extracción, o el proceso de captura.
- 50 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es aquel que incluye un proceso para eliminar las impurezas de una solución en la que el compuesto específico objetivo se disuelve antes de que el vehículo de separación de la presente invención se una con el compuesto específico objetivo. De esta manera, puede elevarse la pureza del compuesto complejo del vehículo de separación y el compuesto específico obtenido en el proceso posterior.
- De acuerdo con un aspecto adicional, en el método para separar un compuesto, el proceso de cristalización, el proceso de selección o el proceso de cristalización se realiza por un medio para cambiar la composición de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación y/o por un medio para cambiar la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación.
- 50 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es un método para cristalizar el vehículo unido con el compuesto específico, para extraer el vehículo unido con el compuesto específico, o cristalizar (solidificar) el propio vehículo al cambiar la composición y/o la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación.

- 5 El vehículo de separación de la presente invención responde claramente a los cambios en la composición y/o en la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación. Por lo tanto, el vehículo de separación acompañado con un compuesto puede cristalizarse o extraerse, o el propio vehículo puede cristalizarse (solidificarse) por un medio para cambiar la composición y/o la temperatura de la solución. Además, en este caso, otras sustancias solubles no unidas al vehículo de separación pueden mantener el estado dejado en la solución.
- Según un aspecto adicional, en el método de separación de un compuesto de acuerdo con el aspecto anterior, el medio para cambiar la composición de la solución es un medio para añadir un disolvente que tiene una alta afinidad hacia el disolvente soluble.
- 10 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es un método para añadir, a una solución en la que se disuelve el propio vehículo de separación o el vehículo de separación unido al compuesto, un disolvente que tiene una alta afinidad hacia la solución. La composición de la solución puede alterarse por la adición de un disolvente con una alta afinidad, de manera que el propio vehículo o el vehículo de separación unido al compuesto puede cristalizarse o extraerse.
- 15 Según un aspecto adicional, el medio para cambiar la composición es un medio para dividir la solución en múltiples fases añadiendo un disolvente que tiene una baja afinidad hacia el disolvente soluble.
- 20 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es un método para dividir una solución en la que se disuelve el propio vehículo de separación o el vehículo de separación unido al compuesto en múltiples fases mediante la adición de un disolvente que tiene una baja afinidad hacia la solución. Por consiguiente, mediante la adición de un disolvente con una baja afinidad, es posible cambiar la composición de la solución y dividirla en múltiples fases, y al mismo tiempo transferir el propio vehículo de separación o el vehículo de separación unido al compuesto de forma selectiva a una fase específica.
- Según un aspecto adicional, el medio para cambiar la composición es un medio para concentrar el disolvente soluble.
- 25 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es un método para concentrar una solución en la que se disuelven el compuesto complejo del vehículo de separación y el compuesto específico. Al concentrar la solución, se eleva la concentración del compuesto complejo del vehículo de separación y el compuesto específico. Por consiguiente, resulta posible cambiar la composición de la solución y cristalizar el vehículo de separación acompañado con el compuesto.
- Según un aspecto adicional, el medio para cambiar la temperatura es un medio para enfriar la solución.
- 30 El método para separar un compuesto de acuerdo con este aspecto es un método para realizar el cambio de la temperatura por enfriamiento de la solución. Enfriando la solución, es posible cambiar la temperatura de la solución y cristalizar o extraer el propio vehículo de separación o el vehículo de separación unido al compuesto.
- Según un aspecto adicional, en el método para separar un compuesto, el proceso de solidificación se lleva a cabo por un medio de adición de un disolvente deficiente en el que la solubilidad del vehículo de separación es baja con respecto al vehículo de separación unido al otro compuesto.
- 35 Según un aspecto adicional, en el método para separar un compuesto, el proceso de extracción se lleva a cabo por un medio de adición de un disolvente capaz de disolver el vehículo de separación unido con el otro compuesto.
- Según un aspecto adicional, en el vehículo de separación, en el que el otro compuesto es un aminoácido; el sitio de reacción A es un grupo atómico capaz de unirse a un aminoácido; R_1 y R_2 , que pueden ser idénticos o diferentes, son grupos que contienen un grupo carbohidrato con un número de carbonos cuyo intervalo oscila entre 14 y 30.
- 40 Según un aspecto adicional, en el vehículo de separación de acuerdo con el aspecto anterior, el sitio de reacción A es un grupo atómico que tiene un grupo hidroxilo, un grupo tiol, o un grupo amino capaz de unirse con un aminoácido.
- 45 Según un aspecto adicional, un método para sintetizar oligopéptidos incluye un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora; un proceso de unión para obtener el vehículo de separación unido a un oligopéptido por unión de un aminoácido al sitio de reacción A del vehículo de separación seguido por la unión en secuencia de otros aminoácidos al aminoácido que se ha unido al vehículo de separación; un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo de separación mientras el oligopéptido se une al mismo; o un proceso de selección para extraer de forma selectiva y/o cristalizar de forma selectiva del vehículo de separación en una fase específica, mientras el oligopéptido se une al mismo; y tras el proceso de cristalización y el proceso de selección, un proceso de escisión para escindir el oligopéptido del vehículo
- 50

de separación unido al oligopéptido.

Dado que el método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con este aspecto puede realizar la reacción sintética en la fase líquida, la eficacia de la reacción y la eficiencia volumétrica son extremadamente altas, de manera tal que incluso los oligopéptidos, cuya síntesis por el método de reacción en fase sólida es difícil, pueden sintetizarse. Además, el vehículo de separación en el estado unido al oligopéptido contenido en la fase líquida tras la compleción de la reacción puede separarse de manera eficiente con una alta pureza. Además, puesto que un reactivo en fase sólida se puede utilizar cuando el oligopéptido se escinde del vehículo de separación unido al oligopéptido, es fácil eliminar el reactivo en fase sólida diferente del caso de escisión con un reactivo soluble.

Por lo tanto, el método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con este aspecto permite que diversos péptidos se sinteticen y proporcionen con facilidad y con rapidez. Este oligopéptido puede utilizarse asimismo como material para la síntesis de oligopéptidos existentes, permitiendo que el número de procesos de síntesis peptídica se reduzca en gran medida.

En la presente memoria, el vehículo de separación utilizado en el método de síntesis peptídica de este aspecto tiene, como se muestra en la fórmula (1), un grupo atómico que tiene un grupo hidroxilo, un grupo tiol, o un grupo amino como A que se une a un aminoácido. Por consiguiente, este vehículo de separación puede unir de forma secuencial una pluralidad de aminoácidos a través del grupo atómico A con el fin de sintetizar el oligopéptido. Además, puesto que el enlace entre este grupo atómico A y el oligopéptido se escinde relativamente con facilidad, un reactivo en fase sólida puede utilizarse cuando el oligopéptido se escinde del vehículo de separación.

Este aminoácido puede ser un aminoácido sin grupo protector, o puede ser un aminoácido protegido con grupos protectores, tales como un grupo Fmoc (9-fluorenilmetoxicarbonilo) y un grupo Cbz (benciloxicarbonilo). Por lo tanto, oligopéptidos sintetizados incluyen, además de los oligopéptidos no modificados, oligopéptidos modificados que tienen el grupo protector de un residuo aminoácido con cadena lateral, un grupo protector amino del aminoácido terminal, y un grupo protector carboxilo.

De acuerdo con un aspecto adicional, en el método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con el aspecto anterior, en el que el proceso de cristalización o el proceso de selección se realiza por un medio para cambiar la composición de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación y/o por un medio para cambiar la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación de acuerdo con la presente invención.

El método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con un aspecto es un método para cristalizar o extraer el vehículo de separación unido al oligopéptido cambiando la composición y/o la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación.

De acuerdo con un aspecto adicional, en el método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con los aspectos anteriores, el proceso de escisión se realiza mediante la adición de un reactivo en fase sólida a una solución en la que se disuelve el vehículo de separación.

De acuerdo con un aspecto adicional, en el método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con el aspecto anterior, el reactivo en fase sólida es un reactivo ácido sólido.

El método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con un aspecto es un método para escindir oligopéptidos del vehículo de separación mediante la adición de un reactivo en fase sólida, tal como un ácido sólido, base sólida y el agente reductor sólido a una solución en la que se disuelve el vehículo de separación; y el método de síntesis oligopeptídica de acuerdo con otro aspecto es un método que utiliza especialmente un reactivo ácido sólido como un reactivo en fase sólida. El oligopéptido escindido y el reactivo en fase sólida utilizados en la escisión pueden separarse con facilidad por filtración.

Efectos de la invención

El vehículo de separación de la presente invención permite realizar una reacción química en una fase líquida, reaccionar un compuesto específico contenido en una fase líquida tras la compleción de la reacción y unido al sitio de reacción A, y separar de forma selectiva otros compuestos de la fase líquida. Por lo tanto, el compuesto objetivo puede separarse de manera eficiente con una alta pureza.

Además, el vehículo de separación de la presente invención no es un polímero, sino un compuesto simple de modo que permite que el compuesto separado se evalúe con facilidad por un análisis estructural o similar, mientras el compuesto se une al vehículo. Por lo tanto, la confirmación de un compuesto, etc. puede realizarse sin tener que pasar por un proceso de separación, de modo que el vehículo de separación de la presente invención puede acortar el tiempo requerido para la síntesis química y fomentar la investigación en la escena de la investigación y el desarrollo.

Además, el vehículo de separación de la presente invención permite que el compuesto que se hace reaccionar y unir al sitio de reacción de A se separe con facilidad del vehículo. Por consiguiente, el compuesto objetivo puede obtenerse eficientemente en un tiempo más corto en comparación con el caso para realizar procesos complicados convencionales, tales como tratamiento químico, tratamiento bioquímico, irradiación con luz y aplicación de estímulos eléctricos.

Además, el vehículo de separación de la presente invención es capaz de recrear de forma reversible el estado soluble y el estado insoluble (cristalizado), o disolverse en una fase específica del líquido separado en múltiples fases de forma selectiva con una alta concentración (partición selectiva) en sustancialmente las mismas condiciones, incluso cuando la estructura química de otro compuesto unido al vehículo cambie por las reacciones químicas secuenciales. Por lo tanto, no es necesario investigar las condiciones de separación en base a las características específicas, etc. de los compuestos respectivos.

Además, el vehículo de separación de la presente invención muestra una solubilidad superior hacia muchos disolventes orgánicos, de modo que puede utilizarse ampliamente sin seleccionar el tipo de líquido en el que se disuelve el compuesto objetivo.

Por lo tanto, puesto que el vehículo de separación de la presente invención tiene los efectos descritos anteriormente, no es necesario examinar las condiciones de cristalización o condiciones de partición en base a las propiedades específicas, etc. de los compuestos respectivos. Por consiguiente, el vehículo de separación de la presente invención no solo permite el desarrollo de procesos que se fabrican con facilidad, sino que también permite, por ejemplo, fomentar la investigación y el desarrollo de fármacos, etc., por síntesis de bibliotecas de compuestos o similares, además de poder contribuir finalmente a la innovación técnica en la industria bioquímica y en la industria química.

Además, el método de separación de un compuesto de acuerdo con la presente invención permite que un compuesto específico se separe de forma selectiva. Es decir, permite únicamente que el compuesto objetivo específico se separe mientras se dejan en el mismo ingrediente(s) soluble(s) en una fase líquida, de manera que sea capaz de evitar un complicado proceso de escisión.

Además, el método de separación de un compuesto de acuerdo con la presente invención puede aplicarse ampliamente sin seleccionar el tipo de disolventes orgánicos ya que el vehículo a utilizar muestra una solubilidad superior hacia muchos disolventes orgánicos.

Por lo tanto, el método de separación del compuesto de la presente invención puede convertirse en una técnica innovadora en la separación y purificación de sustancias bioquímicas, búsqueda de sustancias candidato a fármaco, y constitución de un nuevo método de reacción química sintética y un método de síntesis continua peptídica, etc.

Además, la presente invención puede sintetizar varios oligopéptidos de forma simple y rápida utilizando un vehículo de separación de la estructura que tiene un grupo atómico que sirve como el sitio de reacción para la unión a un aminoácido en el anillo de benceno y cada uno de los grupos de cadena larga que tiene más de un número especificado de átomos de carbono en cada una de las posiciones orto y en cada una de las posiciones para del grupo de átomo mediante un átomo de oxígeno, respectivamente.

Breve descripción de los dibujos

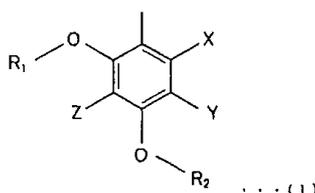
La Fig. 1 es una gráfica del proceso que muestra el método de separación utilizando un vehículo de separación.

Modo preferente para llevar a cabo la invención

En lo sucesivo, las realizaciones preferentes de la presente invención se describen con detalle.

Vehículo de separación

El vehículo de separación de la presente invención representado por la siguiente fórmula (1) tiene un sitio de reacción A para unirse con otro compuesto, y este sitio de reacción A se une al otro compuesto a través de uno cualquiera de un átomo de oxígeno, átomo de azufre o átomo de nitrógeno con el fin de separar el otro compuesto.



en la fórmula,

A es un grupo que contiene un grupo hidroxilo, un grupo tiol o un grupo amino capaz de unirse con un aminoácido;

5 X, Y y Z son hidrógenos;

R₁ y R₂, que pueden ser idénticos o diferentes, son grupos hidrocarbonados que tienen un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 14 a 30.

Sitio de reacción A

10 El sitio de reacción A se une a otro compuesto por uno cualquiera del conjunto seleccionado entre el grupo que consiste en un átomo de oxígeno, átomo de azufre y átomo de nitrógeno. Aunque, en el sitio de reacción A, la estructura del sitio de reacción tiene uno cualquiera del conjunto seleccionado entre el grupo que consiste en un átomo de oxígeno, átomo de azufre y átomo de nitrógeno que se une a otro compuesto no se limita particularmente, pueden ejemplificarse por ejemplo, un grupo hidroxilo, un grupo amino, un grupo tiol.

15 El vehículo de separación de la presente invención puede ser uno que tenga un grupo atómico A que sirve como un sitio de reacción para la unión a un aminoácido. El grupo atómico A no está particularmente limitado.

El vehículo de separación de la presente invención puede ser uno que tenga un grupo hidroxilo, un grupo tiol, o un grupo amino para la unión al aminoácido a fin de tener un grupo atómico A que sirve como un sitio de reacción para la unión al aminoácido.

20 Si este es el caso, el tamaño del grupo atómico A no está particularmente limitado y puede ser suficiente, siempre y cuando una parte del grupo atómico A tenga un grupo hidroxilo, un grupo tiol, o un grupo amino. Además, la posición en la que el grupo hidroxilo, el grupo tiol, o el grupo amino está presente en el grupo atómico A no está particularmente limitada, pero está preferentemente presente en el terminal del grupo atómico A para hacer que la reacción proceda con facilidad.

25 Además, el número de sitios de reacción A en el vehículo de separación de la presente invención es de solo uno en el anillo de benceno. Puesto que el vehículo de separación de la presente invención tiene un único sitio de reacción A, cuando se separa de un compuesto que tiene una parte reactiva capaz de unirse al sitio de reacción A, la relación de reacción del vehículo de separación al compuesto se convierte en 1:1. Por lo tanto, en este caso, el posterior análisis de la estructura o similar resulta fácil.

30 El vehículo de separación de la presente invención es de una estructura que tiene grupos de cadena larga R₁ y R₂ de más de un número especificado de átomos de carbono en cada una de las posiciones orto y en cada una de las posiciones para del sitio de reacción A mediante un átomo de oxígeno, respectivamente.

35 En la presente memoria, R₁ y R₂, que pueden ser iguales o diferentes, son grupos hidrocarbonados que tienen un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 14 y 30. El número de carbonos del grupo hidrocarbonado se encuentra preferentemente en el intervalo comprendido entre 16 y 30, y más preferentemente en el intervalo comprendido entre 18 y 30. Concretamente, pueden ejemplificarse grupos alquilo, tales como grupos octadecilo, icosilo y docosilo que tienen un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 18 a 22.

Además, cuando el grupo atómico A tiene un sitio reactivo para la unión con el aminoácido, R₁ y R₂, que pueden ser los mismos o diferentes, son grupos hidrocarbonados que tienen un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 14 y 30.

40 El número de carbonos del grupo hidrocarbonado se encuentra más preferentemente en el intervalo comprendido entre 18 y 22. Concretamente, pueden ejemplificarse grupos alquilo, tales como grupos octadecilo, icosilo y docosilo que tienen un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 18 y 22.

El vehículo de separación de la presente invención es un vehículo en el que X, Y y Z en el anillo de benceno son hidrógenos.

45

El método de preparación del vehículo de separación de la presente invención no está particularmente limitado. Por ejemplo, un método se cita tras calentar un derivado de 2,4-dihidroxibenzaldehído y bromuro de alquilo en presencia de catalizadores básicos, tales como carbonato de potasio para obtener un derivado de benzaldehído alquileterificado, el aldehído se disuelve en un disolvente adecuado y se reduce utilizando agentes reductores, tales como bicarbonato de sodio a alcohol bencílico con el fin de obtener el vehículo de separación.

Propiedad del vehículo de separación

El vehículo de separación de la presente invención tiene propiedades para cambiar de forma reversible de un estado de fase líquida a un estado de fase sólida de acuerdo con los cambios en la composición y/o en la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo o una fase líquida en la que se funde el vehículo con el fin de cristalizarse o solidificarse mientras el vehículo se une a otro compuesto.

Además, el vehículo de separación de la presente invención también tiene propiedades que se extraen de forma selectiva y/o cristalizan de forma selectiva en una fase específica de acuerdo con los cambios en la composición y/o en la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo, mientras el vehículo se une a otro compuesto. Por consiguiente, puede extraerse y/o cristalizarse de forma selectiva en una fase específica de fases líquidas divididas en más de dos fases.

Además, el vehículo de separación de la presente invención es un vehículo capaz de cambiar de forma reversible de una fase líquida a una fase sólida de acuerdo con los cambios en la composición y/o en la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo o una fase líquida en la que se funde el vehículo con el fin de tener también propiedades que se unen a otro compuesto después de convertirse en un estado en fase sólida.

Método de separación del compuesto

Los métodos de separación de un compuesto de la presente invención incluyen los siguientes tres métodos: (1) un método para realizar la cristalización y/o extracción tras disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble, y unir el compuesto específico objetivo al vehículo de separación; (2) un método en el que, tras fundir el vehículo de separación de la propia presente invención a una fase líquida y unir el compuesto específico objetivo al vehículo en una fase líquida, el vehículo de separación unido al compuesto se solidifica; y (3) un método en el que, tras disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble y cristalizarlo (solidificarlo) posteriormente, el compuesto específico objetivo es capturado por la unión al vehículo cristalizado. En lo sucesivo, se explica por separado cada método.

(1) (i) Método para realizar la cristalización y/o extracción tras disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble y unir el compuesto específico objetivo al vehículo de separación

El método para separar un compuesto, en el que se disuelve el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble y se une en primer lugar el compuesto objetivo al vehículo de separación, incluye: un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora; un primer proceso de unión para unir otro compuesto al sitio de reacción A del vehículo de separación; un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo unido al otro compuesto o un proceso de selección para extraer de forma selectiva y/o cristalizar de forma selectiva el vehículo de separación en una fase específica mientras el otro compuesto se une al mismo.

Proceso de disolución

El proceso de disolución del presente método de separación es un proceso para disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora. Los disolventes solubles utilizados en el proceso de disolución no están particularmente limitados, siempre que sean capaces de disolver el vehículo de separación de la presente invención. Por ejemplo, pueden ejemplificarse un hidrocarburo halogenado, éter lineal, éter cíclico, hidrocarburo cíclico o lineal con un número de átomos de carbono en el intervalo comprendido entre 4 y 40. Más específicamente, pueden ejemplificarse por ejemplo, diclorometano, tetrahidrofurano, ciclohexano, metilciclohexano, decalina, etc. Estos disolventes pueden utilizarse mezclando uno o más de 2 tipos de los mismos.

Aunque la concentración del vehículo de separación de la presente invención cuando se disuelve en un disolvente soluble puede seleccionarse apropiadamente de acuerdo con las propiedades del disolvente a utilizar, un vehículo de separación y un compuesto que va a unirse al vehículo cristalizado de separación, se encuentra por lo general en el intervalo de 0,01 a 0,5 g/ml.

Primer proceso de unión

- 5 El proceso de unión en el presente método de separación es un proceso para obtener un compuesto complejo del vehículo de separación y otro compuesto mediante la unión del otro compuesto al sitio de reacción A del vehículo de separación. Los métodos de unión en el proceso de unión no están particularmente limitados siempre que sean métodos para unir el otro compuesto que tiene una porción capaz de reaccionar con el sitio de reacción de A al sitio de reacción A del vehículo de separación disuelto en un disolvente soluble en el proceso previo, de modo que pueden utilizarse diversas reacciones químicas en fase líquida. Por ejemplo, pueden ejemplificarse los métodos de unión mediante la formación del enlace éster y enlace amida.

Segundo proceso de unión

- 10 El presente método de separación puede ser un método que incluye, tras el primer proceso de unión descrito previamente, un segundo proceso de unión para la unión adicional de otro compuesto al otro compuesto que se ha unido al sitio de reacción A del vehículo de separación. En el presente método de separación, es posible unir una pluralidad de otros compuestos de forma secuencial por medio de reacciones químicas al sitio de reacción A como un punto de origen.
- 15 Los compuestos utilizados al realizar las reacciones químicas secuenciales no están particularmente limitados siempre que sean compuestos capaces de reaccionar y unirse al compuesto que ya se ha unido al sitio de reacción A del vehículo de separación como un punto de origen. Además, las reacciones químicas secuenciales pueden realizarse en la misma fase líquida que contiene el vehículo de separación que ya se ha convertido en un compuesto complejo con otros compuestos o en una fase líquida diferente una vez realizada la solidificación (cristalización) para separar el vehículo de separación que se ha convertido en un compuesto complejo.
- 20

Proceso de eliminación de impurezas

- 25 En el presente método de separación, resulta preferente incluir un proceso de eliminación de impurezas para eliminar las impurezas antes de realizar el siguiente proceso de cristalización o proceso de selección. En el siguiente proceso de cristalización o proceso de selección, las impurezas contenidas en la solución pueden cristalizarse o extraerse a veces junto con el vehículo. Concretamente, cuando se utiliza un medio para destilar todos los disolventes como proceso de cristalización, las impurezas se precipitan junto con cristales del vehículo de separación unido al compuesto como el objetivo de cristalización. Por lo tanto, mediante la eliminación previa de las impurezas antes de realizar el proceso de cristalización o proceso de selección, es posible elevar la pureza de los cristales obtenidos posteriormente del vehículo de separación unido con el compuesto como el objetivo de separación.
- 30

Aunque los métodos para eliminar impurezas no están particularmente limitados, por ejemplo, un método para lavar una solución por completo, en el que puede ejemplificarse un compuesto complejo del compuesto como objetivo de separación y el vehículo de separación se disuelve con un disolvente.

Proceso de cristalización

- 35 El proceso de cristalización en el presente método de separación es un proceso para cristalizar un compuesto unido al vehículo de separación en un primer proceso de unión, un proceso previo, o adicionalmente en un segundo proceso de unión mientras el compuesto se acompaña con el vehículo de separación. Aunque el proceso de cristalización del presente método de separación no está particularmente limitado, hasta ahora permite la cristalización del compuesto como objetivo de separación, mientras el compuesto se une al vehículo de separación, por ejemplo, puede utilizarse preferentemente un medio para cambiar la composición de la solución y/o la temperatura de la solución.
- 40

Proceso de selección

- 45 El proceso de selección del presente método de separación es un proceso para extraer de forma selectiva (como líquido) o cristalizar de forma selectiva un compuesto unido al vehículo de separación en un primer proceso de unión, un proceso previo, o adicionalmente en un segundo proceso de unión en una fase líquida específica, mientras el compuesto se acompaña con el vehículo. Es decir, en el método de separación que incluye el proceso de selección, la fase líquida se encuentra en un estado de múltiples fases que incluye más de dos fases, de modo que el vehículo de separación acompañado por un compuesto se extrae (como líquido) y/o cristaliza de forma selectiva en una fase líquida específica de múltiples fases.
- 50 Aunque el proceso de selección en el presente método de separación no está particularmente limitado, el proceso de selección permite a un compuesto específico, que se convierte en un objetivo de separación, extraerse y/o cristalizarse, mientras el compuesto se une al vehículo de separación, por ejemplo, puede utilizarse preferentemente

un medio para cambiar la composición de la solución y/o un medio para cambiar la temperatura de la solución.

Medio para cambiar la composición

5 Un medio para cambiar la composición de la solución utilizada preferentemente en el proceso de cristalización o proceso de selección del presente método de separación no está particularmente limitado, por lo que permite alterar la composición de la solución en la que se disuelven un complejo del compuesto como un objetivo de separación y el vehículo de separación.

10 En el presente método de separación, como un medio preferente para cambiar la composición de la solución, se ejemplifica por ejemplo un medio para añadir adicionalmente un disolvente que tiene una alta afinidad hacia el disolvente soluble utilizado para disolver el vehículo de separación en el proceso de disolución. Cuando se añade un disolvente que tiene una alta afinidad hacia el disolvente soluble, una fase líquida se mantiene como una única fase sin causar separación de fases.

Un disolvente de alta afinidad puede ser el mismo o diferente del disolvente utilizado como disolvente soluble. Por ejemplo, cuando se utiliza diclorometano, tetrahidrofurano, etc. como disolvente soluble, puede utilizarse acetonitrilo, dimetilformamida, metanol, etc.

15 En el presente método de separación, como otro medio preferente para cambiar la composición de la solución, por ejemplo, puede ejemplificarse un medio para añadir adicionalmente un disolvente que tiene una baja afinidad hacia el disolvente soluble utilizado para disolver el vehículo de separación en el proceso de disolución. Cuando se añade un disolvente que tiene baja afinidad hacia el disolvente soluble, el líquido provoca la separación de fases en una fase doble. De este modo, el propio vehículo de separación o el vehículo de separación unido con un compuesto se transfieren de forma selectiva a una fase específica.

20 Por ejemplo, mediante la disolución del vehículo de separación en ciclohexano, la disolución de otro compuesto y el otro reactivo de reacción arbitraria o similares en dimetilformamida, y la mezcla de las dos soluciones, y posteriormente, tras pasar por un primer proceso de unión o adicionalmente un segundo proceso de unión, mediante la adición de una pequeña cantidad de una solución acuosa de propilencarbonato y sal de amonio correspondiente a un disolvente de baja afinidad, el vehículo de separación unido con el otro compuesto puede disolverse de forma selectiva en la fase de ciclohexano.

25 Además, como otro medio preferente para cambiar la composición de la solución, por ejemplo, se ejemplifica un medio para concentrar el disolvente de una solución, en la que se disuelve el compuesto complejo del compuesto como objetivo de separación y el vehículo de separación. En la presente memoria, la concentración se refiere a una destilación parcial o completa del disolvente. Además, cuando el vehículo de separación unido con un compuesto se cristaliza por la destilación completa del disolvente, las impurezas, etc. contenidos en la solución pueden cristalizarse entre sí, por lo que es preferente incluir un proceso para eliminar las impurezas antes de realizar el proceso de cristalización.

Medio para cambiar la temperatura

35 Un medio para cambiar la temperatura de la solución utilizado preferentemente en el proceso de cristalización o en el proceso la selección del presente método de separación no está particularmente limitado siempre que sea un medio capaz de cambiar la temperatura de la solución en la que se disuelven el compuesto complejo del compuesto que va a ser el objetivo de separación y el vehículo de separación. En el presente método de separación, por ejemplo, puede ejemplificarse un medio para enfriar la solución. Por ejemplo, cuando se utiliza ciclohexano como disolvente soluble para disolver el vehículo de separación, el compuesto complejo puede cristalizarse enfriando la solución a 5 °C. Además, cuando un medio para enfriar el disolvente se utiliza como un medio para cambiar la temperatura de la solución, resulta posible facilitar el crecimiento de los cristales mediante la adición de núcleos de cristalización, tales como partículas de ODS (gel de sílice cuya superficie se une un grupo octadecilo) y microesferas de vidrio.

45 Proceso de escisión

En el método para separar un compuesto de la presente invención, resulta preferente incluir un proceso para separar el compuesto complejo de un compuesto que va a ser el objetivo de separación y el vehículo de separación obtenido en el proceso de cristalización o el proceso de selección en el compuesto y el vehículo de separación.

50 Los métodos de separación en el compuesto y el vehículo de separación no están particularmente limitados siempre que sean capaces de escindir el enlace entre el compuesto y el vehículo de separación. Por ejemplo, cuando se forma un enlace paraalcoxibencilo, es posible escindir el enlace por un tratamiento con ácido. (1) (ii) Un método para realizar la cristalización y/o extracción tras disolver el vehículo de separación de la presente invención en un

disolvente soluble y unir secuencialmente los aminoácidos al vehículo.

El método de separación de un compuesto de la presente invención puede utilizarse como un método de síntesis de un péptido utilizando aminoácidos como el otro compuesto.

5 El método de síntesis oligopeptídica de la presente invención es un método que incluye un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora; un proceso de unión para obtener el vehículo de separación unido con un oligopéptido mediante la unión de un aminoácido con el grupo atómico A del vehículo de separación, y la unión secuencial de otros aminoácidos al aminoácido que se ha unido al vehículo de separación; un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo de separación, mientras el oligopéptido se une al vehículo de separación o un proceso de selección para
10 extraer de forma selectiva y/o cristalizar de forma selectiva el vehículo de separación en una fase específica, mientras el oligopéptido se une al vehículo de separación; y un proceso de escisión para escindir el oligopéptido del vehículo de separación unido con el oligopéptido tras el proceso de cristalización o el proceso de selección.

15 A excepción de que los aminoácidos al igual que otros compuestos están unidos secuencialmente al vehículo de separación a fin de que el vehículo de separación mantenga un péptido, el presente método es común al método (1) (i), en el que la cristalización y/o extracción se realizan una vez que el vehículo de separación de la presente invención se disuelve en un disolvente soluble y el compuesto objetivo específico se une al vehículo de separación, con respecto al proceso de disolución, proceso de eliminación de impurezas, y proceso de selección (un medio para cambiar la composición de la solución, un medio para cambiar la temperatura de la solución). En cuanto a los procesos, véanse las descripciones anteriores.

20 Proceso de unión

En el proceso de unión, tras la unión de un aminoácido al grupo atómico A, que es el sitio de reacción del vehículo de separación para obtener un compuesto complejo del aminoácido y el vehículo de separación, otros aminoácidos se unen secuencialmente al aminoácido que se ha unido al grupo atómico A a fin de obtener un compuesto complejo de oligopéptido y el vehículo de separación. Es decir, en el proceso de unión, una pluralidad de aminoácidos se une de
25 forma secuencial en un orden deseado con el grupo atómico A como un punto de origen para obtener un compuesto complejo de oligopéptido y el vehículo de separación. La unión secuencial puede realizarse en la misma fase líquida que contiene el vehículo de separación que se ha convertido en un compuesto complejo con el aminoácido u oligopéptido, o en una fase líquida diferente una vez que el vehículo de separación se ha convertido en un compuesto complejo se solidifica (cristaliza) y se separa.

30 Aunque los aminoácidos que se unen en este proceso de unión no son particularmente limitados, los aminoácidos protegidos utilizados en el método de reacción en fase sólida convencional, tal como aminoácidos Fmoc y aminoácidos Cbz se pueden utilizar. Además, el número de aminoácidos que van a unirse al vehículo de separación no está particularmente limitado, pero se encuentra preferentemente en el intervalo comprendido entre 2 y 5.

Proceso de cristalización

35 En el proceso de cristalización, el oligopéptido que se ha unido al vehículo de separación en el proceso de unión anterior se cristaliza mientras el oligopéptido está acompañado por el vehículo de separación. En este proceso de cristalización, cualquier medio puede utilizarse en la medida en que el vehículo de separación se pueda cristalizar mientras el vehículo de separación se une con oligopéptido tal como, por ejemplo, pueden utilizarse preferentemente un medio para cambiar la composición de la solución y/o un medio para cambiar la temperatura de la solución.
40 Además, cuando se realiza la cristalización tras la desprotección del aminoácido, es posible hacer que el compuesto complejo se cristalice con facilidad mediante la adición de un ácido débil, tal como ácido fórmico para formar la sal.

Proceso de escisión

45 En el proceso de escisión, el oligopéptido se escinde a partir de un compuesto complejo de oligopéptidos con el vehículo de separación obtenido en el proceso de cristalización o en el proceso de selección. En el proceso de escisión, aunque puede utilizarse un reactivo soluble, tal como ácido trifluoroacético, no resulta fácil separar el ácido del oligopéptido escindido, de manera que se utiliza preferentemente un reactivo en fase sólida. Los reactivos en fase sólida utilizados en el proceso de escisión no están particularmente limitados siempre que sean capaces de escindir oligopéptidos a partir del compuesto complejo, de modo que, por ejemplo, puede utilizarse un ácido sólido, base sólida y agente reductor sólido. Entre ellos, como reactivo ácido sólido, por ejemplo, puede ejemplificarse una resina de intercambio iónico ácida, óxido metálico ácido, óxido metálico combinado ácido, sulfato metálico, fosfato metálico, metalosilicato cristalino, zeolita, alúmina de sílice, etc. Más específicamente, por ejemplo, se pueden ejemplificar un catalizador de zeolita y montmorillonita.
50

(2) Método para solidificar el vehículo de separación de la presente invención tras la fusión del propio vehículo de separación a una fase líquida y la unión de un compuesto objetivo específico al mismo en una fase líquida

5 El método de separación en el que el propio vehículo de separación de la presente invención se funde a una fase líquida y se hace reaccionar con un compuesto específico en la fase líquida incluye un proceso de fusión para calentar el vehículo de separación de la presente invención por encima del punto de fusión para fundirlo a una fase líquida; un proceso de reacción para reaccionar otro compuesto con el sitio de reacción A del vehículo fundido de separación de manera que se une el compuesto al mismo; y un proceso de solidificación para solidificar el vehículo de separación mientras el otro compuesto se une al mismo.

Proceso de fusión

10 El proceso de fusión en el presente método de separación no está particularmente limitado por lo que es un proceso para calentar el vehículo de separación por encima del punto de fusión para fundir el propio vehículo en una fase líquida.

Proceso de reacción

15 El proceso de reacción en el presente método de separación es un método para unir otro compuesto al sitio de reacción A del vehículo de separación para obtener el compuesto complejo del vehículo de separación y el otro compuesto. El método de unión en el proceso de reacción no está particularmente limitado por lo que es un método para unir el otro compuesto que tiene una parte capaz de reaccionar con el sitio de reacción A del vehículo de separación que se ha fluidizado en el proceso anterior, de modo que, similar al primer proceso de unión descrito anteriormente, pueden utilizarse varias reacciones químicas en fase líquida. Por ejemplo, puede ejemplificarse un
20 método de unión mediante la formación del enlace éster y amida. Asimismo en el proceso de reacción, con el fin de mantener la fase líquida, resulta preferente mantener la temperatura de reacción superior al punto de fusión del vehículo de separación.

Segundo proceso de unión

25 El presente proceso de separación puede incluir, tras el proceso de reacción anteriormente descrito, un segundo proceso de unión para unir adicionalmente otro compuesto al otro compuesto que se ha unido al sitio de reacción A del vehículo de separación. El segundo proceso de unión puede realizarse en condiciones similares a las del segundo proceso de unión descrito anteriormente.

Proceso de eliminación de impurezas

30 Además, en el presente método de separación, resulta preferente incluir un proceso de eliminación de impurezas para la eliminación de las impurezas antes de realizar el siguiente proceso de solidificación similar al método de separación descrito anteriormente.

Proceso de solidificación

35 El proceso de solidificación en el presente método de separación es un proceso en el que tras implementar el proceso de reacción o un segundo proceso adicional de unión al vehículo fundido y fluidizado de separación para la unión al otro compuesto, etc., el vehículo de separación se solidifica a una fase sólida mientras estos compuestos se unen al vehículo de separación. Aunque el método de transición de fase sólida en el proceso de solidificación no está particularmente limitado, resulta preferente realizar la transición de fase sólida por medio de la adición de un disolvente deficiente, en el que la solubilidad del compuesto complejo de un compuesto que va a ser el objetivo de separación y el vehículo de separación es baja, al compuesto complejo debido a la fácil operación.

40 Proceso de lavado

Aunque, en el presente método de separación, la separación del compuesto específico objetivo se completa por medio de una fase sólida obtenida en el proceso de solidificación descrito anteriormente, puede implementarse de manera arbitraria un proceso de lavado. El proceso de lavado es un proceso para lavar el vehículo sólido de separación unido al otro compuesto con un disolvente deficiente en el que la solubilidad de este sólido es baja.

45 Proceso de eliminación de impurezas

En el presente método de separación, resulta preferente incluir además el proceso de eliminación de impurezas para eliminar las impurezas antes de realizar el siguiente proceso de extracción similar al método de separación descrito anteriormente.

Proceso de extracción

- 5 En el presente método de separación, resulta preferente incluir un proceso de extracción para extraer de forma selectiva el compuesto complejo de un compuesto que va a ser el objetivo de separación y el vehículo de separación en un disolvente específico tras el proceso de solidificación o proceso de lavado antes mencionado. Aunque el proceso de extracción no está particularmente limitado, resulta preferente realizar el proceso de extracción por medio de la adición de un disolvente capaz de disolver el compuesto complejo de un compuesto que va a ser el objetivo de separación y el vehículo de separación.

Proceso de escisión

- 10 Además, en el presente método de separación, resulta preferente incluir un proceso para separar el compuesto complejo de un compuesto que va a ser el objetivo de separación y el vehículo de separación en el compuesto y el vehículo de separación tras el proceso de solidificación o proceso de extracción antes descrito, similar al método de separación antes mencionado. Cuando se finaliza la operación con el proceso de solidificación, el proceso de escisión puede incluirse tras el proceso de solidificación, y cuando se implementan procedimientos hasta el proceso de extracción, el proceso de escisión puede incluirse tras el proceso de extracción.

- 15 (3) Método para unir y capturar el compuesto objetivo específico (con el vehículo de separación) tras disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble y cristalizar (solidificar) posteriormente el mismo

- 20 El método de separación de un compuesto en el que se disuelve el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble y posteriormente se cristaliza (solidifica) antes de la unión del compuesto objetivo al vehículo de separación incluye: un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación de la presente invención en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora; un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo de separación; y un proceso de captura para capturar otro compuesto mediante la unión del otro compuesto al sitio de reacción A del vehículo cristalizado de separación.

Proceso de disolución

- 25 El proceso de disolución en el presente método de separación puede realizarse por el mismo procedimiento que en el proceso de disolución descrito previamente.

Proceso de cristalización

- 30 El proceso de cristalización en el presente método de separación es un proceso para cristalizar (solidificar) el propio vehículo de separación. Aunque el proceso de cristalización en el presente método de separación no está particularmente limitado, en cuanto a que capaz de cristalizar (solidificar) el vehículo de separación, por ejemplo, puede utilizarse preferentemente un medio para cambiar la composición de una solución en la que el propio vehículo de separación se disuelve y/o un medio para cambiar la temperatura de una solución en la que el propio vehículo de separación se disuelve.

Proceso de eliminación de impurezas

- 35 Además, en el presente método de separación, resulta preferente incluir un proceso de eliminación de impurezas antes de implementar el siguiente proceso de captura, similar al método de separación descrito anteriormente.

Proceso de captura

- 40 El proceso de captura en el presente método de separación es un proceso para unir otro compuesto específico que tiene una parte reactiva al sitio de reacción A del vehículo de separación, que se ha cristalizado (solidificado) en el proceso previo, al sitio de reacción A para obtener el compuesto complejo del vehículo de separación y el otro compuesto. El proceso de captura en el presente método de separación no está particularmente limitado, en cuanto a que es un proceso (método) de unión al sitio de reacción A y otro compuesto específico. Por ejemplo, la unión de amida y la unión de éster pueden ejemplificarse.

Proceso de escisión

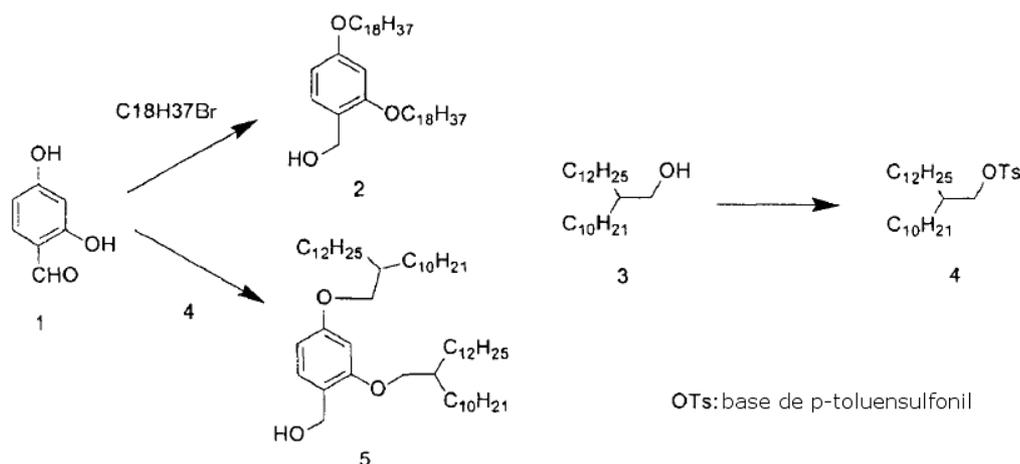
- 45 Además, en el presente método de separación, similar al método de separación descrito anteriormente, resulta preferente incluir un proceso para separar el compuesto complejo de un compuesto que va a ser el objetivo de separación y el vehículo de separación obtenido en el proceso de captura en el compuesto y el vehículo de separación.

Ejemplos

Ejemplo 1

Síntesis del vehículo de separación

5 En lo sucesivo, se muestra una gráfica del proceso de síntesis del vehículo de separación de la presente invención (compuestos 2 y 5 en la figura). Los números en las figuras representan los números de los compuestos.



Síntesis de 2,4-bis(octadeciloxifenil)metanol (Compuesto 2)

Después de que 2,4-dihidroxi-benzaldehído (compuesto 1) (1 g (0,0072 mol)) y bromuro de octadecilo (4,82 g (0,0145 mol)) se disolvieran en dimetilformamida (DMF) (20 ml), se añadió carbonato de potasio (5 g (0,0372 mol)), y la mezcla resultante se agitó en una atmósfera de nitrógeno a 100 °C durante 6 horas. El líquido de reacción así obtenido se extrajo con hexano (3 x 100 ml), y posteriormente esta solución de hexano se concentró al vacío. Se añadió metanol (MeOH) (200 ml) al residuo, y los cristales producidos de este modo se separaron por filtración. Después, los cristales así obtenidos se disolvieron en tetrahidrofurano (THF) (80 ml) y metanol (MeOH) (30 ml), se añadió borohidruro de sodio (0,7 g (0,0184 mol)) a la solución con agitación en un baño de hielo, y después de agitar adicionalmente durante 1 hora, se añadió acetona (20 ml) a la mezcla para terminar la reacción. Posteriormente, después de la concentración al vacío, se añadió agua (50 ml) al residuo. La solución de reacción así obtenida se extrajo con hexano (3 x 100 ml), se secó en sulfato de magnesio anhidro, y el disolvente se destiló al vacío. Además, se añadió metanol (MeOH) (200 ml) al residuo, y los cristales producidos de este modo se separaron por filtración para obtener el compuesto objetivo 2 (2,4-bis(octadeciloxifenil)metanol). El rendimiento fue del 71 %.

20 RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃).

δ 7,12 (d, J = 8,05, 1H), 6,45 (d, J = 2,20, 1H), 6,41 (dd, J = 8,05, 2,20, 1H), 4,60 (d, J = 6,59, 2H), 3,97 (t, J = 6,59, 2H), 3,93 (t, J = 6,59, 2H), 1,86-1,69 (m, 4H), 1,52-1,15 (m, 60H), 0,93-0,83 (m, 6H).

RMN-¹³C (75 MHz, CDCl₃).

δ 160,1, 158,2, 129,5, 121,7, 104,4, 99,8, 68,1, 68,0, 61,9, 31,9, 29,7, 29,6, 29,4, 29,3, 29,2, 26,1, 26,0, 22,7, 14,1.

25 Evaluación de la solubilidad

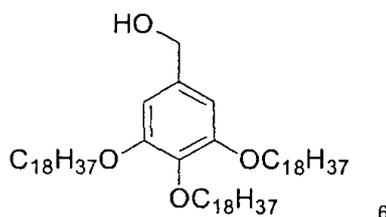
El compuesto 2 (2,4-bis(octadeciloxifenil)metanol) así obtenido se midió para la solubilidad en hexano, ciclohexano, diclorometano y tetrahidrofurano, respectivamente, cuando se utilizan como disolventes a 25 °C. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Disolvente	Solubilidad a 25 °C (mg/ml)	
	Ejemplo 1 (compuesto 2)	Ejemplo comparativo 1 (compuesto 6)
Hexano	46,6	3
Ciclohexano	145	10
Diclorometano	242	46
Tetrahidrofurano	370	184

Ejemplo comparativo 1

5 3,4,5-tris-octadeciloxibenzilalcohol (compuesto 6) con la siguiente fórmula química se midió para la solubilidad en diversos disolventes a 25 °C similar al Ejemplo 1. Los resultados se muestran en la Tabla 1.



10 Como se muestra en la Tabla 1, el compuesto 2 (2,4-bis(octadeciloxifenil)metanol), uno de los vehículos de separación de la presente invención es superior en solubilidad en disolventes utilizados habitualmente que el compuesto convencional 6 (3,4,5-tris-octadeciloxibenzilalcohol). Por consiguiente, el vehículo de separación de la presente invención puede aspirar a mejorar la productividad.

Ejemplo 2

Síntesis de 2,4-bis-(2-decil-tetradeciloxi)-fenilmetanol

(Compuesto 5)

15 2-decil-1-tetradecanol (compuesto 3) (9,7 g (0,0274 mol)) y piridina (10,6 g (0,134 mol)) se disolvieron en diclorometano (100 ml), y se añadió cloruro de tosilo (15,5 g (0,0813 mol)) con agitación en un baño de hielo. Después de agitar durante 3 horas a temperatura ambiente, se añadió agua helada (20 ml) a la mezcla para terminar la reacción. Se añadió hexano (200 ml) a la solución de reacción obtenida, y después de lavar la capa orgánica con HCl 1 N (3 x 100 ml), se lavó con una solución acuosa de bicarbonato sódico saturado (3 x 100 ml), y además con una solución de NaCl saturado tres veces. Después de secar en sulfato de magnesio anhidro, el disolvente se destiló al vacío para obtener el compuesto 4 (ácido toluen-4-sulfónico 2-decil-1-tetradecil éster). El rendimiento fue del 88 %.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃).

δ 7,78 (d, J = 8,25, 2H), 7,33 (d, J = 8,44, 2H), 3,91 (d, J = 5,14, 2H), 2,44 (s, 3H), 1,65-1,51 (m, 1H), 1,38-1,02 (m, 40H), 0,90-0,78 (m, 6H).

25 Después de que se disolvieran 2,4-dihidroxibenzaldehído (293 mg (0,0021 mol)) y el compuesto 4 obtenido anteriormente (ácido toluen-4-sulfónico 2-decil-1-tetradecil éster) (2,8 g (0,0055 mol)) en dimetilformamida (DMF) (20 ml), se añadió carbonato de potasio (1,5 g (0,0109 mol)), y la mezcla resultante se agitó en una atmósfera de nitrógeno a 100 °C durante 16 horas. La solución de reacción así obtenida se extrajo con hexano (3 x 100 ml), y la solución de hexano obtenida se lavó con una solución acuosa de NaCl saturado (3 x 100 ml). Posteriormente, después se secó la solución de hexano en sulfato de magnesio anhidro y se concentró al vacío, el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (THF) (100 ml) y metanol (MeOH) (40 ml), y se añadió borohidruro de sodio (240 mg (0,0063 mol)) a la solución con agitación en un baño de hielo. Después, la mezcla se agitó adicionalmente durante 1 hora, se añadió acetona (20 ml) para terminar la reacción. Después de la concentración al vacío, se añadió agua (50 ml), y la solución de reacción se extrajo con hexano (3 x 100 ml). Además, después de que los extractos de hexano combinados se secan en sulfato de magnesio anhidro, el disolvente se destiló al vacío, y el residuo se purificó por fraccionamiento mediante cromatografía de gel de sílice (solución reveladora, hexano:acetato de etilo = 20:1) para obtener el compuesto objetivo 5 (2,4-bis-(2-decil-tetradeciloxi)-fenilmetanol). El rendimiento fue del 70 %.

30

35

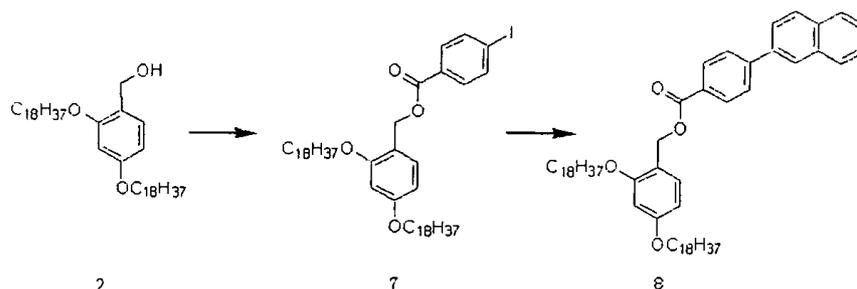
RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃).

δ 7,13 (d, J = 8,07, 1H), 6,47-6,38 (m, 2H), 4,61 (d, J = 6,42, 2H), 3,84 (dd, J = 17,87, 6,42, 4H), 1,86-1,63 (m, 2H), 1,52-1,13 (m, 80H), 0,97-0,75 (m, 12H).

Ejemplo 3

5 Método de separación utilizando un vehículo de separación

En lo sucesivo, se muestra una gráfica del proceso del método de separación utilizando el vehículo de separación (compuesto 2) obtenido en el Ejemplo 1. Los números en las figuras representan los números de los compuestos.



10 Primer proceso de unión

Se disolvieron el compuesto 2 (2,4-bis-octadeciloxifenilmetanol), el vehículo de separación de la presente invención obtenido en el Ejemplo 1 (1 g (1,5502 mmol)), ácido 4-yodobenzoico (0,77 g (3,1046 mmol)) y dimetilaminopiridina (100 mg (0,8195 mmol)) en diclorometano (50 ml), y se añadió además diisopropilcarbodiimida (0,98 g (7,7778 mmol)), y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, tras destilar el disolvente al vacío, se añadió metanol (MeOH) (200 ml) al residuo, y los cristales se filtraron para obtener ácido 4-yodo-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibencil éster (compuesto 7). El rendimiento fue del 81 %.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃).

δ 7,78-7,71 (m, 4H), 7,27 (d, J = 8,4, 1H), 6,48-6,42 (m, 2H), 5,32 (s, 2H), 4,02-3,87 (m, 4H), 1,51-1,13 (m, 64H), 0,95-0,80 (m, 6H).

20 Segundo proceso de unión (proceso para acoplar otro compuesto al compuesto unido al vehículo)

Al compuesto 7 obtenido anteriormente (ácido 4-yodo-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibencil éster) (251 mg (0,2868 mmol)), acetato de paladio (II) (3,2 mg (0,0151 mmol)) y tri-*o*-tolilfosfina (8,7 mg (0,0286 mmol)) se añadió dimetilformamida (DMF) (20 ml), y la mezcla se agitó durante 10 min. A la mezcla así obtenida se añadieron fosfato de potasio (183 mg (0,8632 mmol)), ácido 2-naftalenoborónico (148 mg (0,8605 mmol)) y ciclohexano (20 ml), y la mezcla se agitó a 80 °C durante 20 horas. Después de enfriar la solución de reacción a temperatura ambiente, se convirtió en una solución de dos capas. Después de recuperar solo la capa superior y concentrarla al vacío, los cristales formados se filtraron mediante la adición de metanol (MeOH) (200 ml) para obtener el compuesto 8 (ácido 4-naftalen-2-il-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibenciléster) formado mediante el acoplamiento de otro compuesto al compuesto unido al vehículo de separación. El rendimiento fue del 80 %.

30 RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃).

δ 8,16 (d, J = 8,3, 2H), 8,06 (s, 1H), 7,97-7,82 (m, 3H), 7,80-7,69 (m, 3H), 7,57-7,44 (m, 2H), 7,33 (d, J = 8,8, 1H), 6,53-6,41 (m, 2H), 5,38 (s, 2H), 4,04-3,88 (m, 4H), 1,51-1,12 (m, 64H), 0,95-0,79 (m, 6H).

Proceso de separación

Después de que el compuesto 8 obtenido anteriormente (ácido 4-naftalen-2-il-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibenciléster) (100 mg) se disolviese en diclorometano (30 ml), se añadió ácido trifluoroacético (0,3 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Posteriormente, después de destilar el disolvente al vacío y añadir metanol (MeOH) (100 ml) al residuo, los cristales se eliminaron por filtración. El filtrado se destiló al vacío para obtener ácido 4-naftalen-2-il-benzoico. El rendimiento fue del 95 %.

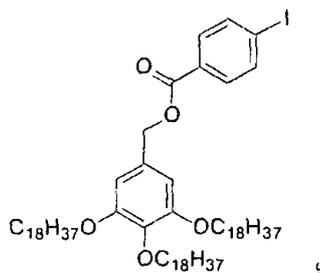
Evaluación de la eficacia de la separación

5 Agitando el compuesto obtenido 7 (ácido 4-yodo-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibencil éster) en disolventes enumerados en la Tabla 2 y para los tiempos mostrados en la Tabla 2, la separación del compuesto del vehículo se realizó para obtener la velocidad de reacción. En este caso, la velocidad de reacción se calculó mediante la evaluación de la desaparición del material por HPLC. Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Sistema de reacción de escisión	Velocidad de reacción (%)	
	Ejemplo 3 (compuesto 7)	Ejemplo comparativo 2 (compuesto 9)
Ácido trifluoroacético/diclorometano al 1 % 30 min	100	1<
Ácido trifluoroacético/diclorometano al 10 % 120 min	100	12
Ácido trifluoroacético/diclorometano al 50 % 120 min	100	100
*Medición del ejemplo 2 para el consumo del material evaluado por HPLC		

10 Con respecto al compuesto 9 (ácido 4-yodo-benzoico 3,4,5-tris-octadeciloxibencil éster) con la siguiente fórmula 6, que se preparó por condensación de ácido 4-yodobenzoico en el compuesto 6 (alcohol 3,4,5-tris-octadeciloxibencilico), la velocidad de reacción de separación se midió en diversas condiciones similares a las del Ejemplo 2. Los resultados se muestran en la Tabla 2.



15 Como se muestra en la Tabla 2, el compuesto 7 (ácido 4-yodo-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibencil éster), uno de los compuestos complejos del vehículo de separación de la presente invención y otro compuesto, permite que el proceso de separación finalice en más condiciones moderadas y en un tiempo más corto en comparación con el compuesto 9 (ácido 4-yodo-benzoico 3,4,5-tris-octadeciloxibencil éster), uno de los productos de condensación del vehículo convencional con el otro compuesto. Por lo tanto, el vehículo de separación de la presente invención puede aplicarse incluso a un compuesto lábil en medio ácido.

Ejemplo 4

20 La reacción de síntesis se realizó de manera similar al Ejemplo 1, a excepción de que se utilizó 1-bromodocosano (5,64 g (0,0145 mol)) en lugar de octadeciloxibromuro para obtener el compuesto objetivo (2,4-bis-docosanoxifenil metanol). El rendimiento fue del 72 %.

Los resultados de las mediciones de RMN se muestran a continuación.

RMN-¹H (400 MHz, CDCl₃).

25 δ 7,12 (d, J = 8,29, 1H), 6,45 (d, J = 2,20, 1H), 6,41 (dd, J = 8,29, 2,20, 1H), 4,60 (d, J = 6,59, 2H), 3,97 (t, J = 6,59, 2H), 3,93 (t, J = 6,59, 2H), 2,26 (t, J = 6,59, 1H), 1,78 (m, 4H), 1,44 (m, 72H), 0,88 (t, J = 6,83, 6H).

Como resultado de la medición de la solubilidad del compuesto obtenido hacia (en) tetrahidrofurano similar al Ejemplo 1, la solubilidad a 25 °C fue de 236 mg/ml.

30 La síntesis se realizó de manera similar al primer proceso de unión del Ejemplo 3, a excepción del uso del compuesto descrito anteriormente (1,17 g) en lugar de 2,4-bis-octadeciloxifenil metanol para obtener ácido 4-yodo-benzoico 2,4-bis-docosanoxibencil éster. El rendimiento fue del 80 %.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃).

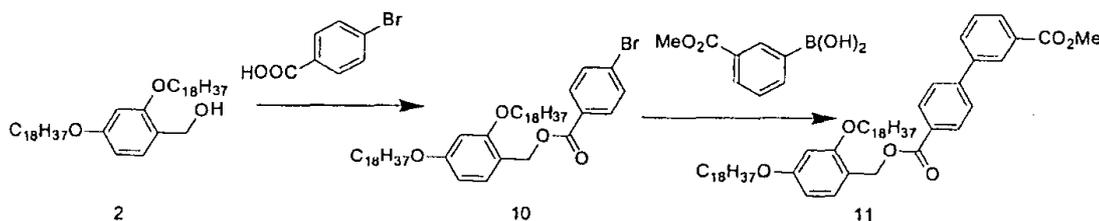
δ 7,78-7,71 (m, 4H), 7,27 (d, J = 8,4, 1H), 6,48-6,42 (m, 2H), 5,32 (s, 2H), 4,02-3,87 (m, 4H), 1,86-1,65 (m, 4H), 1,51-1,13 (m, 76H), 0,95-0,80 (m, 6H).

Se evaluó el compuesto anteriormente obtenido para la eficacia de la separación, similar a la del ejemplo 3, cuando se agitó en diclorometano que contenía ácido trifluoroacético al 1% durante 30 min. Como resultado, la velocidad de reacción era del 100 %.

Ejemplo 5

Método de separación utilizando un vehículo de separación (reacción utilizando microondas)

En lo sucesivo, se muestra una gráfica del proceso del método de separación utilizando el vehículo de separación (compuesto 2) obtenido en el Ejemplo 1. Los números en las figuras representan los números de los compuestos.



Primer proceso de unión

El compuesto 2 (2,4-bis-octadeciloxifenilmetanol), el vehículo de separación de la presente invención obtenido en el Ejemplo 1 (1 g (1,5502 mmol)), ácido 4-bromobenzoico (0,62 g (3,1046 mmol)) y dimetilaminopiridina (100 mg (0,8195 mmol)) se disolvieron en diclorometano (50 ml), y se añadió además diisopropilcarbodiimida (0,98 g (7,7778 mmol)), y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, después de destilar el disolvente al vacío, se añadió metanol (MeOH) (200 ml) al residuo, y los cristales se filtraron para obtener el compuesto 10 (ácido 4-bromo-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibencil éster). El rendimiento fue del 84 %.

Segundo proceso de unión (proceso para acoplar otro compuesto al compuesto unido al vehículo)

Al compuesto 10 obtenido anteriormente (ácido 4-bromo-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibencil éster) (24,8 mg (0,03 mmol)) y cloruro de [1,1-bis-(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (1,1 mg (0,0015 mmol)) se añadió dimetilformamida (DMF) (5 ml), y la mezcla se agitó durante 10 min. A la mezcla resultante se añadieron fosfato de potasio (19,0 mg (0,09 mmol)), ácido 3-metoxicarbonilo borónico (13,5 mg (0,075 mmol)) y ciclohexano (5 ml), y la mezcla se irradió con microondas a 50 W durante 10 min. Después de la radiación, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente para separarla en dos fases. La capa superior se eliminó y el disolvente se destiló al vacío. Se añadió metanol (30 ml) al residuo, y los cristales se filtraron para obtener el compuesto 11 éster metílico (del ácido bifenil-3,4'-dicarboxílico-4'-(2,4-bis-octadeciloxi-bencil) éster). El rendimiento fue del 99 %.

Ejemplo 6

Método de separación utilizando un vehículo de separación (reacción sintética del flujo utilizando microondas)

La Fig. 1 muestra una gráfica del proceso del método de separación utilizando un vehículo de separación (compuesto 2) obtenido en el Ejemplo 1. Los números en las figuras representan los números de los compuestos.

Primer proceso de unión

El compuesto 2 (2,4-bis-octadeciloxifenilmetanol), que es el vehículo de separación de la presente invención obtenido en el Ejemplo 1 (1 g (1,5502 mmol)), ácido 2-yodo-benzoico (0,77 g (3,1046 mmol)) y dimetilaminopiridina (100 mg (0,8195 mmol)) se disolvieron en diclorometano (50 ml), y se añadió adicionalmente diisopropilcarbodiimida (0,98 g (7,7778 mmol)), y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, después de destilar el disolvente al vacío, se añadió metanol (MeOH) (200 ml) (al residuo), y los cristales se filtraron para obtener el compuesto 12 (ácido 2-yodo-benzoico 2,4-bis-octadeciloxibencil éster). El rendimiento fue del 79 %.

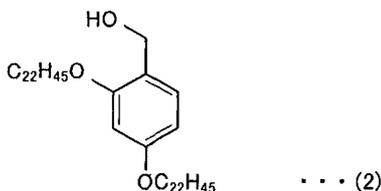
Segundo proceso de unión (proceso para acoplar otro compuesto al compuesto unido al vehículo)

- 5 El compuesto 12 obtenido anteriormente (ácido 2-yodo-benzoico 2,4-bis-octadecioxibencil éster) (26,2 mg (0,03 mmol)) se disolvió en ciclohexano (4 ml). Por separado, a la dimetilformamida (4 ml) se añadieron etinilbenceno (30,6 mg (0,3 mmol)), dicloro-bis(trifenilfosfina)paladio (II) (4,2 mg (0,006 mmol)), trietilamina (30,3 mg (0,3 mmol)) y yoduro de cobre (0,5 mg (0,003 mmol)), y la mezcla se agitó. A la mezcla resultante se le añadió una solución de ciclohexano del compuesto 12 anteriormente obtenido, y después el aire se substituyó con nitrógeno, la síntesis de flujo se realizó por el método mostrado en la Fig. 1. En este caso, el tubo se fabricó con 1 mm de diámetro de Teflón (marca registrada), un tubo de 170 cm que se integra en la unidad de radiación del microondas. Mientras se agita vigorosamente la unidad de alimentación, la solución se suministra desde la unidad de alimentación hacia la unidad de recuperación bajo radiación del microondas a 150 W y a un caudal de 3 ml/min. Después de ejecutar toda la solución, (ácido 2-estilbenzoico 2,4-bis-octadecioxibencil éster), se obtuvo el compuesto 13 a partir de la capa superior de la unidad de recuperación. El rendimiento fue del 90 %. **Ejemplo 7**

Síntesis del dipéptido Fmoc utilizando el vehículo de separación de la presente invención

Disolución del vehículo de separación

- 15 El alcohol 2,4-bis-docociloxibencílico representado por la siguiente fórmula (2) (JITSIBO Co. Ltd, nombre comercial: Hiver-Kb-OH) (en adelante abreviado como "Kb") se utilizó como un vehículo de separación, y 3.800 mg (5 mmol) del mismo se disolvieron en diclorometano (200 ml) para preparar una solución transportadora.



Unión del primer aminoácido al vehículo de separación

- 20 A la solución transportadora obtenida anteriormente se añadieron glicina Fmoc (Gly)-OH (2.300 mg (7,5 mmol)), dimetilaminopiridina (120 mg (1 mmol)) y diisopropilcarbodiimida (1,5 ml (10 mmol)), respectivamente, y la mezcla se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. La compleción de la reacción se confirmó por CCF (cromatografía en capa fina). Después de la reacción, se añadió acetonitrilo (200 ml) a la mezcla de reacción, y el disolvente se destiló gradualmente al vacío. Los cristales así obtenidos se filtraron con un embudo de Kiriya para obtener el compuesto objetivo Kb-Gly-Fmoc. El rendimiento fue del 92 %. Además, a una solución de este compuesto (3.640 mg (3,5 mmol)) disuelta en diclorometano (200 ml) se añadió DBU (1,8-diazabicyclo(5,4,0)undeceno-7) (580 µl), y la mezcla se agitó para reaccionar durante 1 hora a temperatura ambiente. Una vez completada la reacción, se añadieron ácido fórmico (580 µl) y acetonitrilo (200 ml) a la solución, respectivamente, y el disolvente se destiló gradualmente al vacío. Los cristales así obtenidos se filtraron con un embudo de Kiriya para obtener el compuesto objetivo Kb-Gly-H.

Unión del segundo aminoácido al vehículo de separación

- 35 A una solución de Kb-Gly-H obtenida anteriormente (2.100 mg (2,6 mmol)) disuelta en diclorometano (100 ml) se añadieron alanina Fmoc (Ala)-OH.H₂O (1.000 mg (3 mmol)), HBTU (2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluroniohexafluorofosfato) (1.140 mg (3 mmol)), HOBt (1-hidroxibenzotriazol) (400 mg (3 mmol)), dimetilformamida (20 ml), y diisopropiletilamina (550 µl (3 mmol)), respectivamente, y la mezcla se agitó para reaccionar durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de la reacción, se añadió acetonitrilo (200 ml), y el disolvente se destiló gradualmente al vacío. Los cristales así obtenidos se filtraron con un embudo de Kiriya para recuperar el compuesto objetivo Kb-Gly-Ala-Fmoc. El rendimiento fue del 93 %.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃).

- 40 δ 7,76 (2H, d, J = 7,2 Hz), 7,58 (2H, d, J = 7,2 Hz), 7,40 (2H, t, J = 7,2 Hz), 7,31 (2H, t, J = 7,2 Hz), 7,18 (1H, d, J = 7,9 Hz), 6,47-6,40 (3H, m), 5,32 (1H, a), 5,17 (2H, s), 4,51-4,16 (4H, m), 4,09-3,99 (2H, m), 3,98-3,87 (4H, m), 1,84-1,53 (7H, m), 1,47-1,19 (76H, m) 0,88 (6H, m). Escisión del dipéptido Fmoc unido al vehículo de separación de la presente invención por el reactivo en fase sólida

- 45 A una solución de Kb-Gly-Ala-Fmoc obtenida anteriormente (1.000 mg (0,90 mmol)) disuelta en diclorometano (25 ml) se añadió un reactivo de ácido sólido (Sigma-Aldrich, Inc., nombre comercial: montmorillonita K10) (1.000 mg), y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 3,5 horas. La compleción de la reacción se

confirmó por CCF (cromatografía en capa fina). Después de la reacción, se añadió metanol (60 ml), y el disolvente se destiló gradualmente al vacío. El Kb cristalino obtenido y el reactivo de ácido sólido se filtraron con un embudo de Kiriyaama para recuperar el filtrado. El disolvente de este filtrado se destiló al vacío, y el residuo se secó al vacío para recuperar el compuesto objetivo, Fmoc-Ala-Gly-OH. El rendimiento fue del 69 %.

- 5 Como se puede apreciar claramente en el Ejemplo 7, el uso del vehículo de separación representado por la fórmula (2) descrita anteriormente permite que el dipéptido Fmoc se sintetice de manera eficaz en el vehículo de separación, y permite que el vehículo de separación unido con este dipéptido Fmoc se aísle. Además, el tratamiento con un reactivo de ácido sólido permite que el dipéptido Fmoc se escinda del vehículo de separación.

Ejemplo 8

- 10 Síntesis del tripéptido Fmoc utilizando el vehículo de separación de la presente invención

Disolución del vehículo de separación

Similar al Ejemplo 1, Kb se utilizó como vehículo de separación, y 300 mg (5 mmol) del mismo se disolvieron en ciclohexano (100 ml) para preparar una solución transportadora.

Unión del primer aminoácido al vehículo de separación

- 15 A la solución transportadora obtenida anteriormente se añadieron Fmoc-Leu-OH (2.640 mg (7,5 mmol)), dimetilaminopiridina (120 mg (1 mmol)) y diisopropilcarbodiimida (1,5 ml (10 mmol)) en dimetilformamida (100 ml), respectivamente, y la mezcla se agitó para reaccionar a 55 °C durante 1 hora. La compleción de la reacción se confirmó por CCF. Después de la reacción, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente para convertirse en una solución de dos capas, de modo que se recuperó la solución de la capa superior que contenía Kb-Leu-Fmoc. A esta solución de la capa superior se añadió dimetilformamida que contenía DBU al 1 % (70 ml) para formar una solución de dos capas, y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 30 min. La compleción de la reacción se confirmó por CCF. Después de la reacción, se recuperó la solución de la capa superior que contenía Kb-Leu-H.
- 20

Unión del segundo aminoácido al vehículo de separación

- 25 A la solución de la capa superior obtenida anteriormente se añadieron Fmoc-Leu-OH (2.640 mg (7,5 mmol)), HBTU (2.850 mg (7,5 mmol)), HOBT (1.000 mg (7,5 mmol)) y diisopropiletilamina (1.375 µl (7,5 mmol)) en dimetilformamida (70 ml), respectivamente, y la mezcla se agitó para reaccionar a 55 °C durante 1 hora. La compleción de la reacción se confirmó por CCF. Después de la reacción, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente para convertirse en una solución de dos capas, de modo que se recuperó la solución de la capa superior que contenía Kb-Leu-Leu-Fmoc. A esta solución de la capa superior se añadió dimetilformamida que contenía DBU al 1 % (70 ml) para formar una solución de dos capas, y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 30 min. La compleción de la reacción se confirmó por CCF. Después de la reacción, se recuperó la solución de la capa superior que contenía Kb-Leu-Leu-H.
- 30

Unión del tercer aminoácido al vehículo de separación

- 35 A la solución de la capa superior obtenida anteriormente se añadieron Fmoc-Gly-OH (2.230 mg (7,5 mmol)), HBTU (2.850 mg (7,5 mmol)), HOBT (1.000 mg (7,5 mmol)) y diisopropiletilamina (1.375 µl (7,5 mmol)) en dimetilformamida (70 ml), respectivamente, y la mezcla se agitó para reaccionar a 55 °C durante 1 hora. La compleción de la reacción se confirmó por CCF. Después de la reacción, cuando la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se formó una solución de dos capas, de modo que se recuperó la solución de la capa superior que contenía Kb-Leu-Leu-Gly-Fmoc. Después de destilar el disolvente de esta solución de la capa superior gradualmente al vacío, se añadió metanol (300 ml). Los cristales así obtenidos se filtraron con un embudo de Kiriyaama para recuperar el compuesto objetivo Kb-Leu-Leu-Gly-Fmoc. El rendimiento fue del 48 %.
- 40

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃).

- 45 δ 7,74 (2H, d, J = 7,5 Hz), 7,58 (2H, d, J = 7,5 Hz), 7,38 (2H, dt, J = 0,6, 7,5 Hz), 7,29 (2H, dt, J = 0,9, 7,5 Hz), 7,14 (1H, d, J = 8,7 Hz), 6,43-6,31 (3H, m), 6,28-6,21 (1H, m), 5,37 (1H, a), 5,15 (1H, d, J = 11,7 Hz), 5,06 (1H, d, J = 11,7 Hz), 4,62-4,55 (1H, m), 4,49-3,34 (3H, m), 4,20 (1H, t, J = 6,8 Hz), 3,95-3,81 (6H, m), 1,81-1,36 (10H, m), 1,34-1,14 (76H, m), 0,92-0,80 (18H, m).

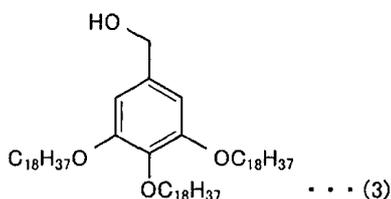
- 50 Como puede apreciarse claramente en el Ejemplo 8, el uso de un vehículo de separación representado por la fórmula (2) descrita anteriormente permite que el tripéptido Fmoc se sintetice de manera eficaz en el vehículo de separación, y permite que el vehículo de separación unido al tripéptido Fmoc se separe. Especialmente, este

tripéptido Fmoc contiene un enlace Leu-Leu de manera que es difícil sintetizarse por el método de reacción en fase sólida. También es posible escindir el tripéptido Fmoc del vehículo de separación por el tratamiento con un reactivo en fase sólida.

Ejemplo comparativo 3

- 5 Escisión del dipéptido Fmoc unido a otro vehículo de separación mediante un reactivo en fase sólida

Se utilizó alcohol 3,4,5-tris-octadeciloxibencílico representado por la siguiente fórmula (3) (en lo sucesivo abreviado como "Ka") como vehículo de separación para recuperar Ka-Gly-Ala-Fmoc de manera similar al Ejemplo 1. A una solución de Ka-Gly-Ala-Fmoc (1.160 mg (0,92 mmol)) disuelta en diclorometano (25 ml) se añadió un reactivo de ácido sólido, (Sigma-Aldrich, Inc., nombre comercial: montmorillonita K10) (1.000 mg), y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 3,5 horas. Después de la reacción, se añadió metanol (60 ml), y el disolvente se destiló gradualmente al vacío. Los cristales obtenidos y el reactivo de ácido sólido se filtraron con un embudo de Kiriya para recuperar el filtrado. Aunque el disolvente de este filtrado se destiló al vacío y el residuo se secó al vacío, no se pudo obtener el compuesto objetivo Fmoc-Ala-Gly-OH.



- 15 Como puede apreciarse claramente en el ejemplo comparativo 3, cuando se utilizó el vehículo de separación representado por la fórmula (3) descrita anteriormente, no se pudo obtener el dipéptido Fmoc. Esto es aparentemente debido a la unión entre el vehículo de separación Ka y el dipéptido que es comparativamente difícil de escindir, de modo que no se escindió por medio del reactivo de ácido sólido.

Ejemplo comparativo 4

- 20 Escisión del dipéptido Fmoc unido al vehículo en fase sólida mediante un reactivo en fase sólida

Se utilizó resina de cloro-tritil(2-cloro) (Watanabe Chemical Industry) (en lo sucesivo abreviada como "CTC") (1,45 mmol) como vehículo en fase sólida, y CTC-Gly-Ala-Fmoc se sintetizó por el método de reacción en fase sólida. Además, a una solución de CTC-Gly-Ala-Fmoc (580 mg, cantidad soportada de 0,84 mmol) disuelta en diclorometano (25 ml) se añadió un reactivo de ácido sólido (Sigma-Aldrich, Inc., nombre comercial: montmorillonita K10) (1.000 mg), y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 3,5 horas. Después de la reacción, se añadió metanol (60 ml), y el disolvente se destiló gradualmente al vacío. Los cristales obtenidos y el reactivo de ácido sólido se filtraron con un embudo de Kiriya para recuperar el filtrado. Aunque el disolvente de este filtrado se destiló al vacío y el residuo se secó al vacío, no se pudo obtener el compuesto objetivo Fmoc-Ala-Gly-OH.

- 30 Como puede apreciarse claramente en el ejemplo comparativo 4, cuando se utilizó el vehículo en fase sólida, no se pudo obtener el dipéptido Fmoc. Esto es aparentemente debido a la insolubilidad de tanto el vehículo en fase sólida como del reactivo de ácido sólido en la solución de reacción, de modo que no tienen posibilidad alguna de interactuar entre sí, dando lugar al fallo de la escisión del enlace.

Ejemplo 9

- 35 Síntesis de tripéptido por reacción en fase sólida utilizando el dipéptido Fmoc

Síntesis de tripéptido en un vehículo en fase sólida

Al igual que en el ejemplo comparativo 4, CTC-fenilalanina (Phe)-H se sintetizó por el método de reacción en fase sólida utilizando CTC como un vehículo en fase sólida. Además, similar al Ejemplo 7, se sintetizó Fmoc-Ala-Gly-OH. Después, se añadieron a diclorometano (2 ml) CTC-Phe-H (110 mg (0,145 mmol)), Fmoc-Ala-Gly-OH (160 mg (0,4 mmol)), HBTU (165 mg (0,4 mmol)), HOBt (60 mg (0,4 mmol)), dimetilformamida (1 ml) y diisopropiletilamina (75 µl (0,4 mmol)), respectivamente, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la reacción, la fase sólida se lavó con dimetilformamida (3 x 2 ml), metanol (3 x 2 ml) y diclorometano (3 x 2 ml), respectivamente. Posteriormente, a la fase sólida anterior se añadió la solución de desprotección de Fmoc preparada previamente (dimetilformamida:piperidina: DBU = 96:2:2) (2 ml), y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora para obtener CTC-Phe-Gly-Ala-H.

Escisión del tripéptido unido al vehículo en fase sólida

El CTC-Phe-Gly-Ala-H obtenido anteriormente se lavó con dimetilformamida (3 x 2 ml), metanol (3 x 2 ml), y diclorometano (3 x 2 ml), respectivamente. Posteriormente, se añadió el fluido de escisión preparado previamente (diclorometano que contenía ácido tricloroacético al 1 %) (20 ml), y la mezcla resultante se agitó para reaccionar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la reacción, la solución se filtró a través de un embudo de Kiriya para recuperar el filtrado. El disolvente de este filtrado se destiló al vacío, y el residuo se secó al vacío para obtener el compuesto objetivo H-Ala-Gly-Phe-OH. Como resultado de la cromatografía líquida de alto rendimiento, la pureza fue del 94 %.

Como puede apreciarse claramente en el Ejemplo 9, el uso del dipéptido Fmoc sintetizado utilizando un vehículo de separación representado por la fórmula (2) descrita anteriormente como material del método de reacción en fase sólida permite que se sintetice un tripéptido en un menor número de procesos, rápidamente y con alta pureza.

Ejemplo comparativo 5

Síntesis de tripéptido por un método de reacción en fase sólida

Síntesis de tripéptido en un vehículo en fase sólida

Al igual que en el ejemplo comparativo 4, CTC-Phe-H se sintetizó por el método de reacción en fase sólida utilizando CTC como un vehículo en fase sólida. Posteriormente, se añadieron a diclorometano (2 ml) CTC-Phe-H (110 mg (0,145 mmol)), Fmoc-Gly-OH (120 mg (0,4 mmol)), HBTU (165 mg (0,4 mmol)), HOBT (60 mg (0,4 mmol)), dimetilformamida (1 ml) y diisopropiletilamina (75 μ l (0,4 mmol)), respectivamente, y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la reacción, la fase sólida se lavó con dimetilformamida (3 x 2 ml), metanol (3 x 2 ml) y diclorometano (3 x 2 ml), respectivamente. Posteriormente, a la fase sólida se añadió la solución de desprotección de Fmoc previamente preparada (dimetilformamida:piperidina:DBU = 96:2:2) (2 ml), y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora para obtener CTC-Phe-Gly-H. Este CTC-Phe-Gly-H se disolvió en diclorometano (2 ml), y se añadieron Fmoc-Ala-OH.H₂O (130 mg (0,4 mmol)), HBTU (165 mg (0,4 mmol)), HOBT (60 mg (0,4 mmol)), dimetilformamida (1 ml) y diisopropiletilamina (75 μ l (0,4 mmol)), respectivamente, y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de la reacción, la fase sólida se lavó con dimetilformamida (3 x 2 ml), metanol (3 x 2 ml), y diclorometano (3 x 2 ml), respectivamente. Posteriormente, a la fase sólida se añadió la solución de desprotección de Fmoc previamente preparada (dimetilformamida:piperidina:DBU = 96:2:2) (2 ml), y la mezcla se agitó para reaccionar a temperatura ambiente durante 1 hora para obtener CTC-Phe Gly-Ala-H.

Escisión de tripéptido unido al vehículo en fase sólida

El CTC-Phe-Gly-Ala-H obtenido anteriormente se lavó con dimetilformamida (3 x 2 ml), metanol (3 x 2 ml), y diclorometano (3 x 2 ml), respectivamente. Posteriormente, se añadió la solución de escisión previamente preparada (diclorometano que contenía ácido tricloroacético al 1 %) (20 ml), y la mezcla resultante se agitó para reaccionar durante 30 minutos a temperatura ambiente. Después de la reacción, la solución se filtró a través de un embudo de Kiriya para recuperar el filtrado. El disolvente de este filtrado se destiló al vacío, y el residuo se secó al vacío para obtener el compuesto objetivo H-Ala-Gly-Phe-OH. Como resultado de la cromatografía líquida de alto rendimiento, la pureza fue del 88 %.

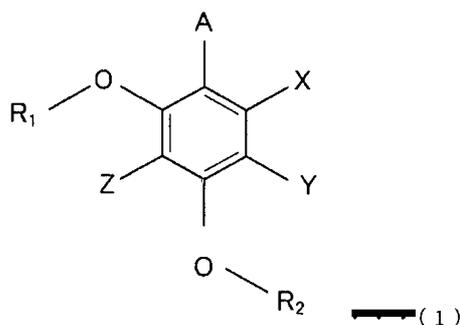
Como puede apreciarse claramente en el ejemplo comparativo 5, el tripéptido se podría sintetizar como es habitual por un método de reacción en fase sólida convencional, pero la pureza del producto era inferior en comparación con el Ejemplo 9. Esto es probablemente debido a, por ejemplo, un fallo parcial de la reacción de CTC-Phe-H con Fmoc-Gly-OH y, en cambio, se debe a la reacción de CTC-Phe-H con Fmoc-Ala-OH.H₂O añadido posteriormente, lo que resulta en la síntesis de un dipéptido, H-Ala-Phe-OH, o debido a un fallo parcial de la reacción de CTC-Phe-Gly-H con Fmoc-Ala-OH.H₂O, lo que resulta en la síntesis de un dipéptido, H-Gly-Phe-OH.

Aplicabilidad industrial

El vehículo de separación y el método para separar un compuesto de acuerdo con la presente invención permiten fomentar la investigación y el desarrollo de fármacos, etc., por la síntesis de bibliotecas de compuestos, de manera que sea capaz de contribuir finalmente a la innovación técnica en la industria bioquímica y en la industria química. Además, la presente invención es capaz de convertirse en una técnica innovadora en la separación y purificación de sustancias bioquímicas, búsqueda de sustancias candidato a fármaco, y constitución de nuevos métodos de reacción química sintética y método de síntesis continua de péptidos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un vehículo de separación representado por la siguiente fórmula química (1) que tiene un sitio de reacción A para la unión con un compuesto que se va a separar, en el que el sitio de reacción A se une al compuesto que se va a separar por medio de uno cualquiera del conjunto seleccionado entre el grupo que consiste en un átomo de oxígeno, un átomo de azufre y un átomo de nitrógeno para separar el compuesto que se va a separar; el vehículo de separación es aquel que va a extraerse de forma selectiva y/o cristalizarse de forma selectiva en una fase específica de acuerdo con un cambio en la composición y/o en la temperatura de una solución en la que el vehículo de separación se disuelve cuando el compuesto que se va a separar se une al vehículo de separación;



- 10 en la que A es un grupo que contiene un grupo hidroxilo, un grupo tiol o un grupo amino capaz de unirse con un aminoácido;
X, Y y Z son hidrógeno;
R₁ y R₂, que pueden ser idénticos o diferentes, son un grupo hidrocarburo que tiene un número de carbonos en
15 el intervalo comprendido entre 14 y 30.

2. El vehículo de separación de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R₁ y R₂, que son idénticos o diferentes, son un grupo hidrocarburo que tiene un número de carbonos en el intervalo comprendido entre 18 y 22.

- 20 3. El vehículo de separación de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el sitio de reacción A es un grupo que contiene un grupo hidroxilo.

4. El vehículo de separación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el compuesto que se va a separar es un aminoácido.

- 25 5. Un método para separar un compuesto que comprende: un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora;

- 30 un primer proceso de unión para unir el compuesto que se va a separar al sitio de reacción A del vehículo de separación; y un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo de separación cuando el compuesto que se va a separar se une al vehículo, o un proceso de selección para extraer de forma selectiva el vehículo de separación en una fase específica mientras el compuesto que se va a separar se une al vehículo y/o para cristalizar de forma selectiva el vehículo de separación en una fase específica mientras el compuesto que se va a separar se une al vehículo.

6. El método para separar un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, que comprende, después del primer proceso de unión, un segundo proceso de unión para unir adicionalmente otro compuesto al compuesto que se va a separar que se unió al sitio de reacción A del vehículo de separación.

- 35 7. El método para separar un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 o 6, que comprende además, tras el proceso de cristalización o el proceso de selección, un proceso de escisión para escindir el compuesto que se va a separar del vehículo de separación al que estaba unido el compuesto que se va a separar.

- 40 8. El método para separar un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, que comprende además, antes del proceso de cristalización o del proceso de selección, un proceso para eliminar las impurezas de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación o una fase líquida en la que se funde el vehículo de separación.

9. El método para separar un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en el que el proceso de cristalización o el proceso de selección se realiza por un medio para cambiar la composición de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación y/o por un medio para cambiar la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación.
- 5 10. Un método para la separación de un oligopéptido que comprende: un proceso de disolución para disolver el vehículo de separación de acuerdo con la reivindicación 4 en un disolvente soluble para preparar una solución transportadora;
- 10 un proceso de unión para obtener el vehículo de separación unido a un oligopéptido por unión de un aminoácido al sitio de reacción A del vehículo de separación y unión en secuencia de otros aminoácidos al aminoácido que se ha unido al vehículo de separación;
- 15 un proceso de cristalización para cristalizar el vehículo de separación cuando el oligopéptido se une al vehículo, o un proceso de selección para extraer de forma selectiva y/o cristalizar de forma selectiva el vehículo de separación en una fase específica mientras el oligopéptido se une al vehículo; y
- tras el proceso de cristalización o el proceso de selección, un proceso de escisión para escindir el oligopéptido del vehículo de separación al cual se ha unido el oligopéptido.
11. El método de acuerdo con la reivindicación 10, en el que el proceso de cristalización o el proceso de selección se realiza por un medio para cambiar la composición de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación y/o por un medio para cambiar la temperatura de una solución en la que se disuelve el vehículo de separación.
- 20 12. El método de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, en el que el proceso de escisión se realiza por adición de un reactivo en fase sólida a una solución en la que se disuelve el vehículo de separación.
13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el reactivo en fase sólida es un reactivo ácido sólido.

FIG. 1

