

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 637 415**

51 Int. Cl.:

C07C 271/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.05.2013** **PCT/EP2013/059759**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.11.2013** **WO13171135**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2013** **E 13722408 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.06.2017** **EP 2849882**

54 Título: **Derivados del dipéptido de lisina-ácido glutámico**

30 Prioridad:

15.05.2012 EP 12168119

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

13.10.2017

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es:

PUENTENER, KURT

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

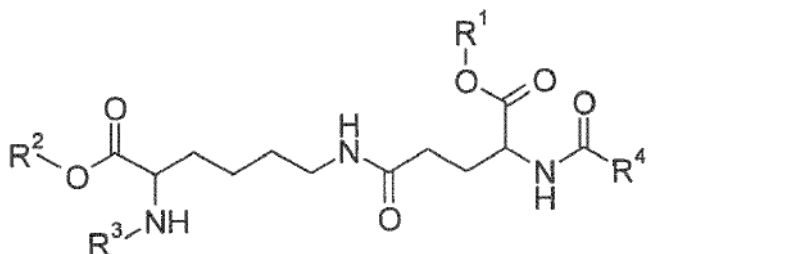
ES 2 637 415 T3

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

Derivados del dipéptido de lisina-ácido glutámico

5 La presente invención se refiere a compuestos de fórmula



en la que:

10 R¹ es t-butilo;

R² es alilo;

15 R³ es 9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonilo y

R⁴ es alquilo C₁₂₋₂₀,

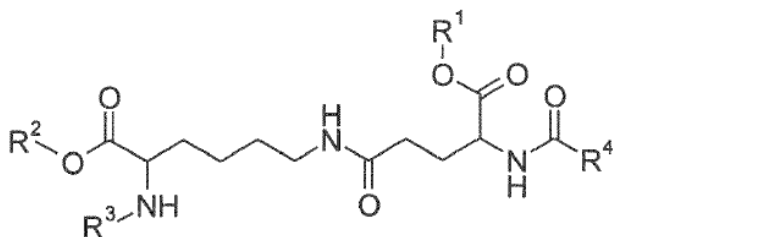
y sus enantiómeros, diastereómeros y sales.

20 En un modo de realización adicional, la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula I y al uso de los compuestos de fórmula I en la síntesis de péptidos en fase sólida.

25 Se ha encontrado que los compuestos de la presente invención son productos intermedios peptídicos versátiles para la síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS) de fármacos peptídicos que comprenden una unidad estructural de cadena lateral Glu-alquilo graso unido a una parte Lys de la cadena peptídica. Por ejemplo, se puede mencionar la Liraglutida, que es un fármaco peptídico análogo de GLP-1 para tratar la diabetes tipo 2. La Liraglutida lleva una unidad estructural de cadena lateral Glu-hexadecanoilo en la posición Lys²⁶ (Wikipedia, la enciclopedia libre de 30.04.2012). El documento US 2006/258580 A1 divulga intermedios peptídicos para la síntesis en fase sólida.

30 El objeto de la presente invención es proporcionar nuevos productos intermedios peptídicos que lleven una cadena lateral Glu-alquilo graso y que se puedan insertar fácilmente en la SPPS.

35 Se encontró que los compuestos de la presente invención de fórmula



en la que:

40 R¹ es t-butilo;

R² es alilo;

45 R³ es 9H-fluoren-9-ilmtoxycarbonilo y

R⁴ es alquilo C₁₂₋₂₀,

y sus enantiómeros, diastereómeros y sales tienen el potencial de ser muy útiles para este propósito.

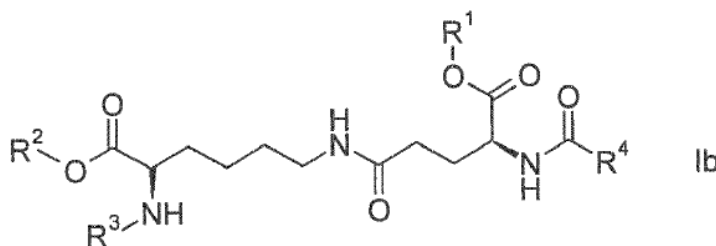
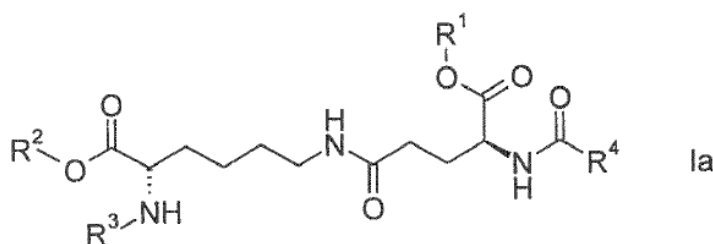
El término «alquilo C₁₂₋₂₀» usado para el sustituyente R⁴ se refiere a un radical hidrocarburo alifático saturado monovalente, ramificado o de cadena lineal, de doce a veinte átomos de carbono, particularmente a un radical hidrocarburo alifático saturado monovalente de cadena lineal. El término se puede ejemplificar por los radicales dodecilo, tridecilo, tetradecilo, pentadecilo, hexadecilo, heptadecilo, octadecilo, nonadecilo y eicosanilo.

En un modo de realización particular, R⁴ se refiere a alquilo C₁₄₋₁₆, aún más particularmente a alquilo C₁₅.

Más particularmente, R⁴ es tetradecilo, pentadecilo o hexadecilo, pero particularmente pentadecilo.

El término «sales» en relación con los compuestos de la presente invención abarca las sales habituales que aplicarían los expertos en la técnica, tales como clorhidratos, acetatos, trifluoroacetatos o formiatos.

En un modo de realización particular de la presente invención, los compuestos de fórmula I tienen la fórmula



en la que:

R¹, R², R³ y R⁴ son como anteriormente y sus enantiómeros, diastereómeros y sales.

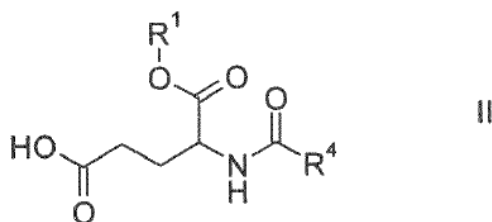
Los compuestos de fórmula Ia o Ib con el patrón de sustitución que se muestra a continuación son modos de realización aún más particulares de la invención:

■ R¹ es t-butilo, R² es alilo, R³ es Fmoc, R⁴ es alquilo C₁₅, particularmente pentadecilo.

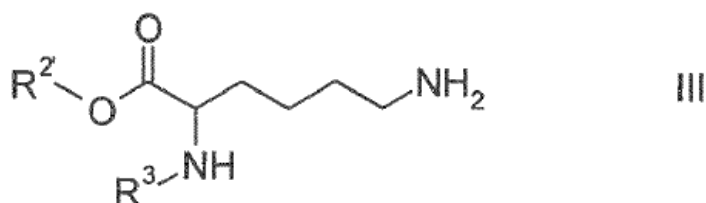
En un modo de realización más particular, los compuestos de fórmula I tienen la fórmula Ia.

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar con procedimientos que en principio son conocidos por los expertos en la técnica de síntesis de péptidos.

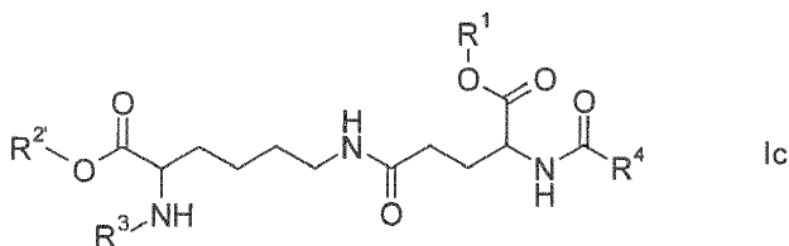
Para la preparación de compuestos de fórmula I, el procedimiento comprende el acoplamiento del derivado de ácido glutámico de fórmula



en la que R¹ y R⁴ son como anteriormente, o una sal de los mismos con un derivado de lisina de fórmula



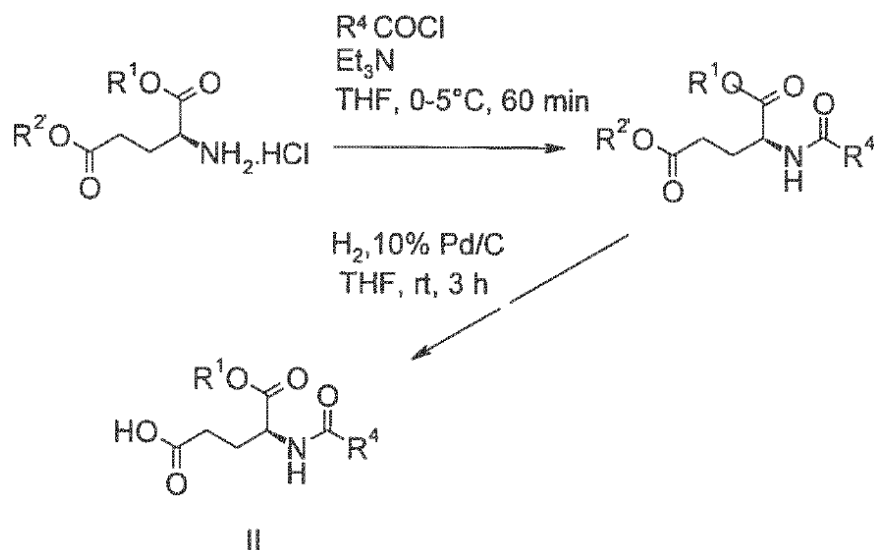
en la que R² es alilo y R³ es como anteriormente, o una sal de los mismos para formar un compuesto de fórmula



en la que R¹, R², R³ y R⁴ son como anteriormente;

El derivado de ácido glutámico de fórmula II se puede preparar siguiendo el esquema 1 siguiente partiendo de materiales de partida comercialmente disponibles.

Esquema 1



Un derivado de ácido glutámico adecuado comercialmente disponible de fórmula II es el clorhidrato de (S)-2-amino-pentanodioato de 1-*tert*-butilo 5-bencilo.

Los derivados de lisina de fórmula III están comercialmente disponibles. Convenientemente, se usa (S)-6-amino-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-aminohexanoato de alilo.

El acoplamiento del derivado de ácido glutámico de fórmula II con el derivado de lisina de fórmula III se puede realizar entonces aplicando las técnicas clásicas para la síntesis de péptidos.

De acuerdo con ello, el derivado de ácido glutámico de fórmula II se activa inicialmente con un agente activante que es habitual en la técnica, tal como carbonildiimidazol (CDI), carbodiimidas seleccionadas, por ejemplo, de dicitohexilcarbodiimida (DCC) o diisopropilcarbodiimida (DIC) o triazoles seleccionados, por ejemplo, de 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) o 1-hidrox-7-aza-benzotriazol (HOAt).

Se han conseguido buenos resultados con CDI (1,1'-carbonildiimidazol) aplicado en un disolvente orgánico adecuado como, por ejemplo, diclorometano.

El acoplamiento puede entonces tener lugar con el derivado de lisina de fórmula III en presencia de una base orgánica tal como trietilamina, por regla general a temperatura ambiente.

El compuesto dipéptido resultante de fórmula Ib se puede obtener de la fase orgánica por evaporación del disolvente y posterior cristalización del residuo en un disolvente orgánico adecuado, tal como éter dietílico.

Los compuestos de fórmula Ib como subgénero de fórmula Ia descritos anteriormente son modos de realización particulares de la presente invención.

Representantes particulares de compuestos de fórmula Ib son (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo con $R^1 = t$ -butilo, $R^2 =$ alilo, $R^3 = \text{Fmoc}$ y $R^4 =$ pentadecilo.

Como se ha indicado anteriormente, los compuestos de fórmula I se pueden utilizar como productos intermedios versátiles en la síntesis de péptidos en fase sólida, particularmente en la síntesis de péptidos que comprenden una unidad estructural de cadena lateral Glu-alquilo graso unido a una parte Lys de la cadena peptídica.

Incluso más particularmente, los compuestos de fórmula I se pueden usar en la síntesis de péptidos en fase sólida Fmoc de dichos péptidos.

Ejemplos

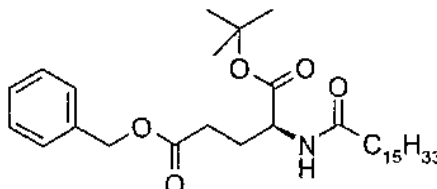
Abreviaturas

t.a. = temperatura ambiente, DCM = diclorometano, THF = tetrahidrofurano, TBME = *terc*-butil metil éter, EtOAc = acetato de etilo, TLC = cromatografía de capa fina

Ejemplo 1

Ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico

a) (S)-2-palmitamidopentanodioato de 1-*terc*-butilo 5-bencilo

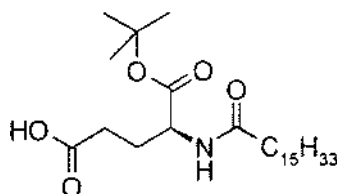


En un matraz de 3 bocas de 200 ml, una mezcla de clorhidrato de (S)-2-amino-pentanodioato de 1-*terc*-butilo 5-bencilo (5,00 g, 14,9 mmol), trietilamina (3,12 g, 30,7 mmol) y tetrahidrofurano (100 ml) se agitó a 0 °C-5 °C durante 15 min. A la suspensión se le añadió cloruro de palmitoilo (4,35 g, 15,5 mmol) mediante una jeringa durante 10 min. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min adicionales a 0 °C-5 °C. La TLC (EE/heptano 1:1, R_F del material de partida = 0,1, R_F del producto = 0,6, detectado con ayuda del reactivo de Komarowsky a 254 nm (véase P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, *14*, 269)) confirmó que la conversión se había completado. A la mezcla de reacción se le añadió agua (60 ml) y *terc*-butil metil éter (70 ml) y la mezcla se agitó a t.a. durante 5 min. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (120 ml), se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a sequedad para proporcionar (S)-2-palmitamidopentanodioato de 1-*terc*-butilo 5-bencilo (8,21 g, > 99 %) como un sólido blanco con un 98,9 % de pureza química (procedimiento de LC, véase más adelante).

Mp: 47 °C. EI-MS: m/z = 531,39 ($M+H^+$).

Procedimiento de LC: Columna X-Bridge fenilo n.º 823, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 µm; fase móvil, A: agua/MeCN (95:5), B: MeCN, C: agua/glicina (pH 9); caudal: 3 ml/min; gradiente de 50/4/55 (A/B/C) a 7/88/5 (A/B/C) en 2 min, gradiente isocrático 7/88/5 (A/B/C) durante 0,8 min. Tiempos de retención: 0,54 min ((S)- y (R)-2-amino-pentanodioato de 1-*terc*-butilo 5-bencilo), 2,17 min ((S)- y (R)-2-palmitamidopentanodioato de 1-*terc*-butilo 5-bencilo).

b) Ácido (S)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanoico

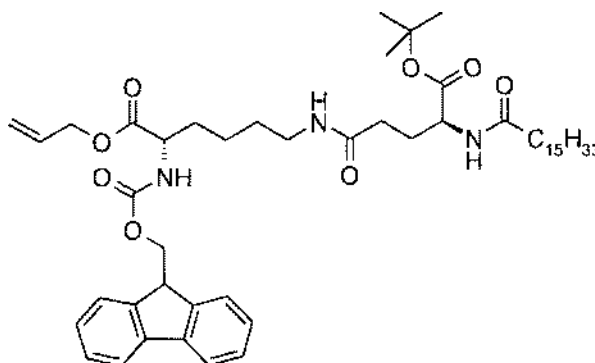


En un matraz de 3 bocas de 250 ml, una mezcla de (S)-2-palmitamidopentanodioato de 1-*terc*-butilo 5-bencilo (13,2 g, 24,8 mmol), paladio al 10 % sobre carbón vegetal (1,31 g, 1,20 mmol) y THF (150 ml) se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente. Tras 23 h, la TLC (EE/heptano 1:1, R_F del material de partida = 0,5, R_F del producto = 0,2, detectado con ayuda del reactivo de Komarowsky (véase P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, 14, 269)) confirmó que la conversión se había completado. La suspensión negra se pasó a través de un filtro de fibra de vidrio y el filtrado incoloro resultante se evaporó a sequedad para proporcionar el producto en bruto (11,3 g), que luego se purificó por cristalización en heptano para producir ácido (S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanoico (8,78 g, 76 % de rendimiento) en forma de un sólido blanco con un 97,7 % de pureza química (procedimiento de LC, véase más adelante).

Mp: 63 °C. EI-MS: m/z = 440,33 (M-H).

Procedimiento de LC: Columna X-Bridge fenilo n.º 823, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 μ m; fase móvil, A: agua/MeCN (95:5), B: MeCN, C: agua/glicina (pH 9); caudal: 3 ml/min; gradiente de 50/4/55 (A/B/C) a 7/88/5 (A/B/C) en 2 min, gradiente isocrático 7/88/5 (A/B/C) durante 0,8 min. Tiempos de retención: 0,77 min (ácido (S)-y (R)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanoico), 2,17 min ((S)- y (R)-2-palmitamidopentanodioato de 1-*terc*-butilo 5-bencilo).

c) (S)-2-(((9H-fluoren-9-yl)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo



En un matraz de 3 bocas de 500 ml, una mezcla de ácido (S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanoico (8,77 g, 19,4 mmol), 1,1'-carbonyldimidazol (3,30 g, 20,4 mmol) y DCM (125 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. A la suspensión blanca resultante se le añadió una solución de (S)-6-amino-2-((9H-fluoren-9-yl)metoxi)carbonilamino)-6-aminohexanoato de alilo (8,68 g, 19,5 mmol) y trietilamina (1,96 g, 19,4 mmol) en DCM (50 ml) en 15 min. La mezcla de reacción se agitó durante otros 90 min a t.a. para completar la conversión (determinada mediante TLC (EE/heptano 1:1, R_F del material de partida = 0, R_F del producto = 0,5, detectado con ayuda del reactivo de Komarowsky (véase P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, 14, 269)). A continuación, se añadió DCM (50 ml) y agua (40 ml) a la mezcla y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con DCM (20 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico. Después de la evaporación del disolvente, el producto en bruto residual (16,0 g) se purificó por cristalización en éter dietílico para proporcionar

(S)-2-(((9H-fluoren-9-yl)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo (15,2 g, 91 %) como un sólido blanco con un 96,5 % de pureza química (procedimiento de LC, véase más adelante) y > 99,9 % de pureza enantio- y diastereomérica (procedimiento de LC quiral, véase más adelante).

Mp: 118 °C. EI-MS: m/z = 832,55 (M+H⁺).

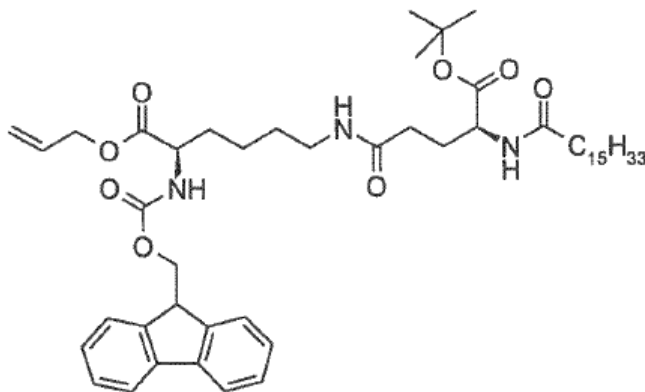
Procedimiento de LC: Columna X-Bridge fenilo, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 μ m; fase móvil, A: agua/MeCN (95:5), B: MeCN, C: ácido fórmico al 0,1 % en agua; caudal: 2 ml/min; gradiente de 65/25/10 (A/B/C) a 10/80/10 (A/B/C) en 10 min, gradiente isocrático 10/80/10 (A/B/C) durante 2 min. Tiempos de retención: 9,59 min ((S)-2-(((9H-fluoren-9-yl)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo).

Procedimiento de LC quiral: Columnas Chiracel OD-RH n.º 745 y n.º 702, 150 x 4,6 mm, DI 5 μ m; fase móvil, A: MeCN, B: agua/HClO₄ (pH 2); caudal: 1 ml/min, gradiente isocrático 68/32 (A/B) durante 32 min, gradiente de 68/32

(A/B) a 75/25 (A/B) en 0,5 min, gradiente isocrático 75/25 (A/B) durante 29,5 min. Tiempos de retención: 45,39 min ((*R*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((*R*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo), 47,75 min ((*R*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((*S*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo), 51,98 min ((*S*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((*R*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo), 55,66 min ((*S*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((*S*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo).

Ejemplo 2

(*R*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((*S*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo



En un matraz de 3 bocas de 25 ml, una mezcla de ácido (*S*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanoico (500 mg, 1,12 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (175 mg, 1,14 mmol), 1,1'-carbonildiimidazol (200 mg, 1,23 mmol) y DCM (10 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. A la suspensión blanca resultante se le añadió una solución de (*R*)-6-amino-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-aminohexanoato de alilo (507 mg, 1,12 mmol) y trietilamina (113 mg, 1,12 mmol) en DCM (5 ml) en 5 min. La mezcla de reacción se agitó durante otros 60 min a temperatura ambiente para completar la conversión (determinada mediante TLC (DCM/MeOH 95:5, R_F del material de partida = 0, R_F del producto = 0,2, detectado con UV a 254 nm). A continuación, se le añadió agua (10 ml) a la mezcla y se separaron las fases. La fase acuosa se extrajo con DCM (30 ml) y la fase orgánica combinada se secó sobre sulfato sódico.

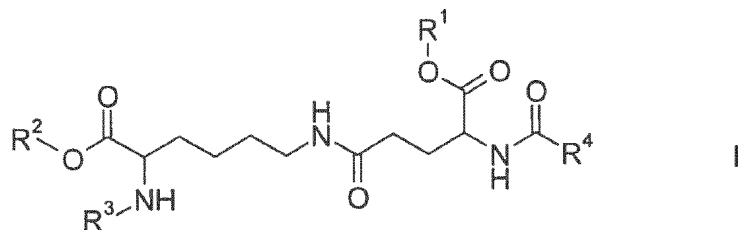
Después de la evaporación del disolvente, el producto en bruto residual (983 mg) se purificó por cristalización en éter dietílico para proporcionar (*R*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((*S*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo (686 mg, 70 %) en forma de un sólido blanco con un 94,2 % de pureza química (procedimiento de LC, véase más adelante) y > 99,9 % de pureza enantio- y diastereomérica (procedimiento de LC quiral, véase el ejemplo 1c).

Mp: 114 °C. EI-MS: m/z = 832,54 ($M+H^+$).

Procedimiento de LC: Columna X-Bridge fenilo, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 μ m; fase móvil, A: agua/MeCN (95:5), B: MeCN, C: ácido fórmico al 0,1 % en agua; caudal: 2 ml/min; gradiente de 65/25/10 (A/B/C) a 10/80/10 (A/B/C) en 10 min, gradiente isocrático 10/80/10 (A/B/C) durante 2 min. Tiempos de retención: 9,55 min ((*R*)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((*S*)-5-*tert*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo).

REIVINDICACIONES

1. Compuestos de fórmula



en la que:

R¹ es t-butilo;

R² es alilo;

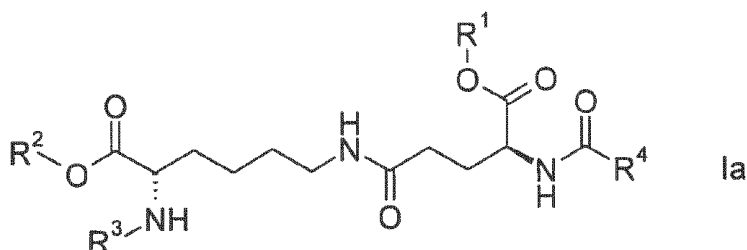
R³ es 9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo y

R⁴ es alquilo C₁₂₋₂₀,

y sus enantiómeros, diastereómeros y sales.

2. Compuestos de la reivindicación 1, en los que R⁴ es alquilo C₁₄₋₁₆.

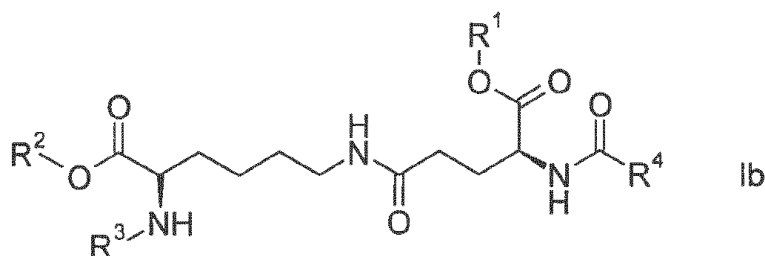
3. Compuestos de las reivindicaciones 1 o 2 de fórmula



en la que:

R¹, R², R³ y R⁴ son como anteriormente y sus enantiómeros, diastereómeros y sales.

4. Compuestos de las reivindicaciones 1 a 3 de fórmula



en la que:

R¹, R², R³ y R⁴ son como anteriormente y sus enantiómeros, diastereómeros y sales.

5. Compuestos de las reivindicaciones 3 o 4, en los que

R¹ es t-butilo y R² es alilo, R³ es 9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo y R⁴ es alquilo C₁₅.

6. Compuestos de la reivindicación 5, en los que

R¹ es t-butilo y R² es alilo, R³ es 9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo y R⁴ es pentadecilo.

5 7. Uso de los compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 en la síntesis de péptidos en fase sólida de péptidos que comprenden una unidad estructural de cadena lateral Glu-alquilo graso unido a una parte Lys de la cadena peptídica.

10 8. Uso de la reivindicación 7, en el que la síntesis de péptidos en fase sólida es una síntesis de péptidos en fase sólida FMOC.