

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 692 364**

51 Int. Cl.:

B01J 19/00 (2006.01)

C07C 271/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2013** **E 16179885 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018** **EP 3127604**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de derivados dipeptídicos 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:

03.12.2018

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

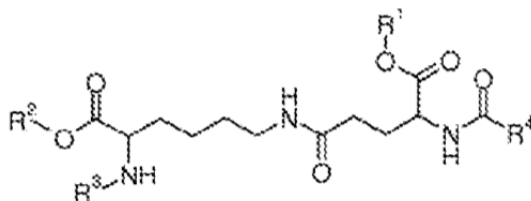
ES 2 692 364 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de derivados dipeptídicos de lisina-ácido glutámico

5 La divulgación se refiere a compuestos de fórmula



en la que,

10 R¹ y R² son iguales o diferentes e indican hidrógeno o un grupo protector de éster,

R³ es hidrógeno o un grupo protector de amino y

15 R⁴ es alquilo C₁₂₋₂₀,

y a sus enantiómeros, diastereómeros y sales.

La invención se refiere a un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula I como se define en las reivindicaciones.

20 También se divulga el uso de los compuestos de fórmula I en la síntesis de péptidos en fase sólida.

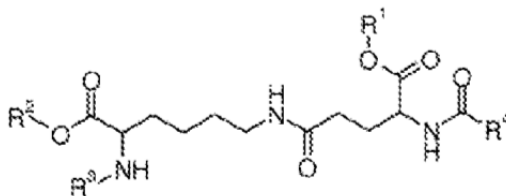
Se ha descubierto que los compuestos de la presente divulgación son intermediarios peptídicos versátiles para la síntesis de péptidos en fase sólida (SPPS) de fármacos peptídicos que comprenden una unidad estructural de cadena lateral de Glu-alquilo graso enlazada a una parte de Lys de la cadena peptídica. Por ejemplo, se puede mencionar liraglutida, que es un fármaco peptídico para la diabetes de tipo 2 análogo a GLP-1. Liraglutida tiene una unidad estructural de cadena lateral de Glu-hexadecanoilo en la posición Lys²⁶ (Wikipedia, la enciclopedia libre del 30-04-2012).

30 JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 54, n.º 5, 10 de marzo de 2011 (10-03-2011), páginas 1490-1510 divulga "Structure-Activity Relationships in Nucleotide Oligomerization Domain 1 (Nod 1) Agonistic [gamma]-Glutamyl-diaminopimelic Acid Derivatives".

35 El documento US 2006/258580 A1 divulga la síntesis en fase sólida de derivados dipeptídicos de lisina-ácido glutámico.

El objetivo de la presente divulgación es proporcionar intermediarios peptídicos novedosos que tengan una cadena lateral de Glu-alquilo graso y que se puedan insertar fácilmente en la SPPS.

40 Se descubrió que los compuestos de la presente divulgación de fórmula



en la que,

45 R¹ y R² son iguales o diferentes e indican hidrógeno o un grupo protector de éster,

R³ es hidrógeno o un grupo protector de amino y

50 R⁴ es alquilo C₁₂₋₂₀,

y sus enantiómeros, diastereómeros y sales tienen el potencial de cumplir muy bien este propósito.

El término "alquilo C₁₂₋₂₀" usado para el sustituyente R⁴ se refiere a un radical hidrocarburo alifático saturado monovalente de cadena lineal o ramificada de doce a veinte átomos de carbono, particularmente a un radical hidrocarburo alifático saturado monovalente de cadena lineal. El término se puede ejemplificar mediante 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, incluso más particularmente a alquilo C₁₅.

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

El término "grupo protector de amino" usado para el sustituyente R³ se refiere a sustituyentes comunes usados convencionalmente para impedir la reactividad del grupo amino. Los grupos protectores de amino adecuados se describen en "Fmoc Solid Phase Peptide Synthesis – A Practical Approach" W.C.Chan & P.D. White, Oxford University Press, 2000, reimpresso en 2004, impreso digitalmente.

Particularmente R³ es Fmoc (9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo).

El término "grupo protector de éster" usado para los sustituyentes R¹ y R² se refiere a cualquier sustituyente usado convencionalmente para impedir la reactividad del grupo hidroxilo. Los grupos protectores de hidroxilo adecuados se describen en Green T., "Protective Groups in Organic Synthesis", capítulo 1, John Wiley and Sons, Inc., 1991, 10-142 y se pueden seleccionar de alquilo C₁₋₄, sustituido opcionalmente con fenilo, alquenilo C₂₋₄, piperidinilo o dimetilaminoboranilo. Los grupos protectores de éster particulares para R¹ y R² son alquilo C₁₋₄ o alquenilo C₂₋₄.

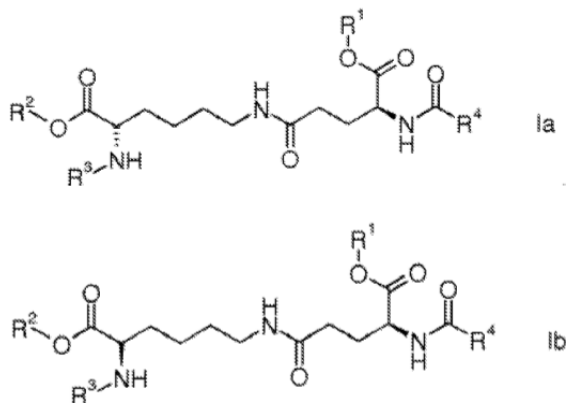
Más particularmente R¹ es t-butilo y R² es alilo.

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

En un modo de realización particular de la divulgación R¹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₄ y R² es hidrógeno o alquenilo C₂₋₄.

En otro modo de realización más particular de la invención R¹ es t-butilo y R² es hidrógeno o alilo.

En un modo de realización particular de la divulgación, 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 como a continuación son modos de realización incluso más particulares de la divulgación:

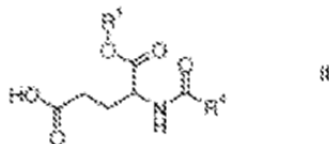
- R¹ t-butilo, R² hidrógeno, R³ Fmoc, R⁴ alquilo C₁₅, particularmente pentadecilo.
- R¹ t-butilo, R² alilo, R³ Fmoc, R⁴ alquilo C₁₅, particularmente pentadecilo.

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

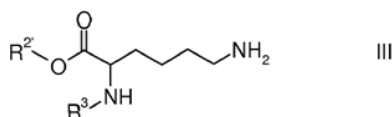
Los compuestos de la presente invención se pueden preparar con procedimientos que, en principio, se conocen por el experto en la técnica de la síntesis de péptidos.

Para la preparación de compuestos de fórmula I, en la que R^2 es hidrógeno, el procedimiento reivindicado comprende

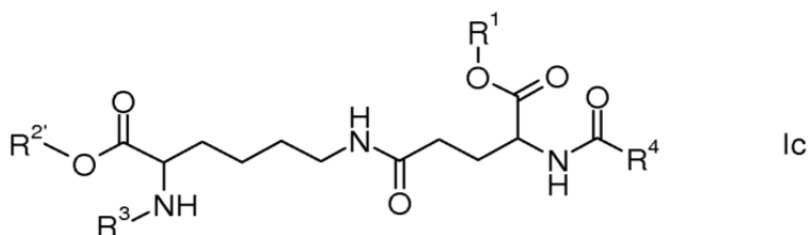
a) acoplar el derivado de ácido glutámico de fórmula



en la que R^1 y R^4 son como se define en las reivindicaciones, o una sal del mismo con un derivado de lisina de fórmula



en la que $R^{2'}$ es un grupo protector de éster y R^3 es como se define en las reivindicaciones, o una sal del mismo para formar un compuesto de fórmula



en la que R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como se define en las reivindicaciones y

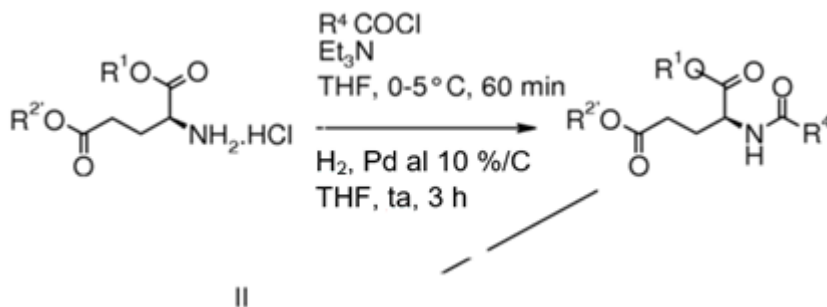
b) eliminar el grupo protector de éster $R^{2'}$.

Etapa a)

La etapa a) requiere el acoplamiento del derivado de ácido glutámico de fórmula II con el derivado de lisina de fórmula III.

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

Esquema 1:



Un derivado de ácido glutámico disponible comercialmente adecuado 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 disponibles comercialmente. Adecuadamente se usa el (S)-6-amino-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-aminohexanoato de alilo.

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

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

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

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

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

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

Los representantes particulares de los 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, $R^3 =$ Fmoc y $R^4 =$ pentadecilo.

Etapa b)

La etapa b) requiere la eliminación del grupo protector de éster $R^{2'}$ para formar el compuesto de fórmula Ia.

Esta reacción se conoce bien por el experto en la técnica.

Un sistema adecuado para eliminar el grupo alilo es, por ejemplo, una solución de una fuente de Pd, como tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) y de fenilsilano en un disolvente orgánico, tal como diclorometano, tetrahidrofurano o metiltetrahidrofurano.

La reacción puede tener lugar a temperatura ambiente.

El dipéptido resultante de fórmula Ia se puede obtener a partir de la fase orgánica mediante evaporación del disolvente y digestión posterior del producto en bruto con un disolvente orgánico adecuado, tal como con heptano y/o una mezcla de heptano/diclorometano.

Como se expone anteriormente, se pueden usar los compuestos de fórmula I como intermediarios versátiles en la síntesis de péptidos en fase sólida, particularmente en la síntesis de péptidos que comprenden una unidad estructural de cadena lateral de Glu-alquilo graso enlazada a una parte de Lys de la cadena peptídica.

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

Ejemplos

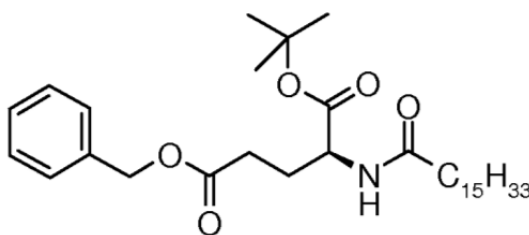
Abreviaturas:

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

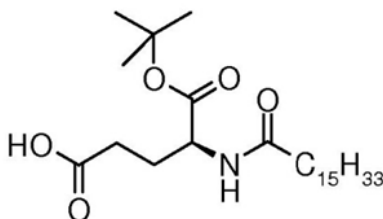


En un matraz de 3 bocas de 200 ml, se agitó una mezcla de clorhidrato de (S)-2-amino-pentanodioato de 1-terc-butilo 5-bencilo (5,00 g, 14,9 mmol), trietilamina (3,12 g, 30,7 mmol) y tetrahidrofurano (100 ml) a 0-5 °C durante 15 min. A la suspensión, se le añadió cloruro de palmitoilo (4,35 g, 15,5 mmol) por medio de una jeringa en 10 min. Se agitó la mezcla de reacción durante 30 min adicionales a 0-5 °C. En cuanto a TLC (EE/heptano 1:1, material de partida $R_F = 0,1$, producto $R_F = 0,6$, detectado con ayuda del reactivo de Komarowsky a 254 nm (véase P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, *14*, 269)), la conversión se había completado. A la mezcla de reacción se le añadió agua (60 ml) y éter metil terc-butílico (70 ml) y la mezcla se agitó a t.a. durante 5 min. La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera (120 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó hasta 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 CL, véase a continuación).

Pf 47 °C; IE-EM: $m/z=531,39$ (M+H)⁺.

Procedimiento de CL: columna de fenilo X-Bridge n.º 823, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 µm; fase móvil, A: agua/NCMe (95:5), B: NCMe, C: agua/glicina (pH 9); flujo: 3 ml/min; gradiente de 50/4/55 (A/B/C) a 7/88/5 (A/B/C) en 2 min, 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

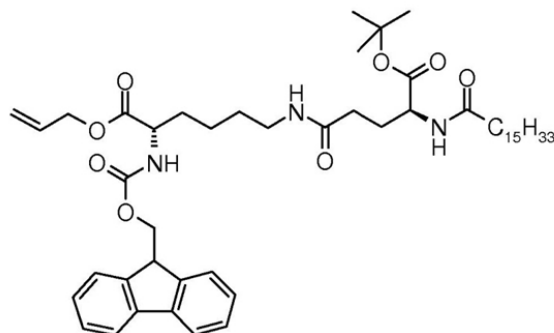


En un matraz de 3 bocas de 250 ml, se agitó una mezcla de (S)-2-palmitamidopentanodioato de 1-terc-butilo 5-bencilo (13,2 g, 24,8 mmol) en bruto, paladio al 10 % sobre carbono (1,31 g, 1,20 mmol) y THF (150 ml) en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente. En cuanto a TLC (EE/heptano 1:1, material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

Pf 63 °C; IE-EM: $m/z=440,33$ (M-H)⁻.

Procedimiento de CL: columna de fenilo X-Bridge n.º 823, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 µm; fase móvil, A: agua/NCMe (95:5), B: NCMe, C: agua/glicina (pH 9); flujo: 3 ml/min; gradiente de 50/4/55 (A/B/C) a 7/88/5 (A/B/C) en 2 min, 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-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo



En un matraz de 3 bocas de 500 ml, se agitó una mezcla de ácido (S)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanoico (8,77 g, 19,4 mmol), 1,1'-carbonyldiimidazol (3,30 g, 20,4 mmol) y DCM (125 ml) a temperatura ambiente durante 90 min. A la suspensión blanca resultante, se le añadió una solución de (S)-6-amino-2-(((9H-fluoren-9-il)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. Se agitó la mezcla de reacción durante otros 90 min a t.a. para completar la conversión (determinada por medio de TLC (EE/heptano 1:1, material de partida $R_F = 0$, producto $R_F = 0,5$, detectado con ayuda del reactivo de Komarowsky (véase P. Stevens, *J. Chromatog.* **1964**, 14, 269)). Luego, se le añadió DCM (50 ml) y agua (40 ml) a la mezcla y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo con DCM (20 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la evaporación del disolvente, se purificó el producto en bruto residual (16,0 g) mediante cristalización a partir de éter dietílico para proporcionar

(S)-2-(((9H-fluoren-9-il)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 CL, véase a continuación) y >99,9 % de pureza enantiómera y diastereómera (procedimiento de CL quiral, véase a continuación).

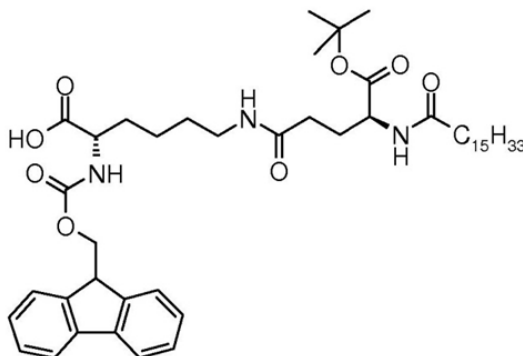
Pf 118 °C; IE-EM: $m/z=832,55$ (M+H)⁺.

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

Procedimiento de CL quiral: columnas Chiracel OD-RH n.º 745 y n.º 702, 150 x 4,6 mm, DI 5 μ m; fase móvil, A: NCMe, B: agua/HClO₄ (pH 2); flujo: 1 ml/min, isocrático 68:32 (A/B) durante 32 min, gradiente de 68/32 (A/B) a 75/25 (A/B) en 0,5 min, 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-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo), 47,75 min ((R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo), 51,98 min ((S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((R)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo), 55,66 min ((S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-terc-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo).

Ejemplo 2

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



En un matraz de 3 bocas de 500 ml, se agitó una mezcla de (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo (10,0 g, 11,4 mmol), fenilsilano (7,02 g, 62,9 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (1,00 g, 0,85 mmol) y DCM (250 ml) a temperatura ambiente. En cuanto a TLC (EE/heptano 3:1, material de partida $R_F = 0,2$, producto $R_F = 0$, detectado con UV a 254 nm), después de 11 min la conversión se había completado. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (50 ml) y se lavó sucesivamente con agua (50 ml), dietilditiocarbamato de sodio acuoso (0,5 %, 30 ml) y salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó con rotación hasta sequedad. La digestión del producto en bruto residual, en primer lugar con heptano (25 ml), y, más tarde con heptano/DCM (9:1), a t.a., después de filtración y secado, proporcionó el ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico (8,92 g) en bruto con un 77,2 % de pureza química (procedimiento de CL, véase a continuación). El producto en bruto contenía un 11 % de óxido de trifenilfosfina como impureza principal. La cromatografía de fluidos supercríticos preparativa (procedimiento de SFC, véase a continuación) de una muestra de 1 g del producto en bruto proporcionó ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico (0,75 g, 72 %) puro como un sólido blanco con un 96,7 % de pureza química (procedimiento de CL, véase a continuación), un 98,0 % de pureza enantiómera y un 99,8 % de diastereómera (procedimiento de CL quiral, véase a continuación)

Pf 119 °C; IE-EM: $m/z = 792,52$ (M+H)⁺.

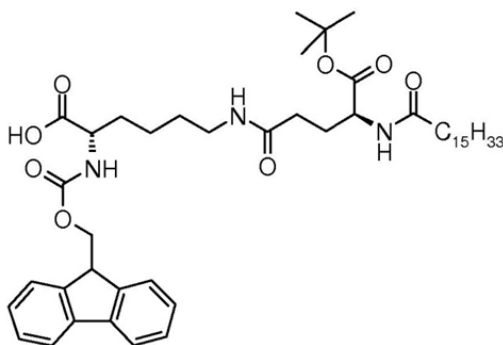
Procedimiento de CL: columna de fenilo X-Bridge n.º 823, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 µm; fase móvil, A: agua/NCMe (95:5), B: NCMe, C: ácido fórmico al 0,1 % en agua; flujo: 2 ml/min; gradiente de 65/25/10 (A/B/C) a 10/80/10 (A/B/C) en 10 min, isocrático 10/80/10 (A/B/C) durante 2 min. Tiempos de retención: 8,65 min (ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico), 9,59 min ((S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo).

Procedimiento de CL quiral: columnas Chiracel OD-RH n.º 745 y n.º 702, 150 x 4,6 mm, DI 5 µm; fase móvil, A: NCMe, B: agua/HClO₄ (pH 2); flujo: 1 ml/min, isocrático 68:32 (A/B) durante 32 min, gradiente de 68/32 (A/B) a 75/25 (A/B) en 0,5 min, isocrático 75/25 (A/B) durante 29,5 min. Tiempos de retención: 21,56 min (ácido (R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((R)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico), 23,52 min (ácido (R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico), 25,68 min (ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((R)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico), 28,32 min (ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico)

Procedimiento de SFC preparativa: columna OBD de 2-etilpiridina Viridis, 150 x 30 mm, DI 5 µm; temperatura de columna de 50 °C; fase móvil, A: CO₂, B: MeOH; flujo: 60 ml/min, gradiente de 80:20 (A/B) a 60/40 (A/B) en 10 min.

Ejemplo 3

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



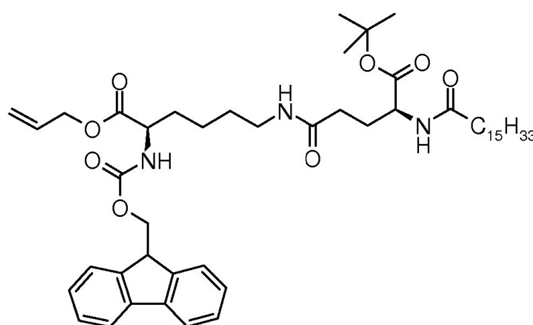
En un matraz de 3 bocas de 250 ml, se agitó una mezcla de (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo (12,0 g, 13,7 mmol), fenilsilano (2,28 g, 20,4 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (96,0 mg, 0,08 mmol) y DCM (120 ml) a t.a. En cuanto a TLC (DCM/MeOH 9:1, material de partida $R_F = 0,9$, producto $R_F = 0,3$, detectado con UV a 254 nm), después de 3 h la conversión se había completado. Entonces, se lavó sucesivamente la mezcla de reacción con dietilditiocarbamato de sodio acuoso (0,5 %, 20 ml) y salmuera (75 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó con rotación hasta sequedad para dar ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-

palmitamidopentanamido)hexanoico (11,6 g) en bruto con un 93,5 % de pureza química (procedimiento de CL, véase el ejemplo 2), >99,9 % de pureza enantiómera y un 99,7 % de diastereómera (procedimiento de CL quiral, véase el ejemplo 2) que contenía un 1,2 % de óxido de trifenilfosfina residual. Entonces, se suspendió el producto en bruto en heptano (230 ml) durante 1 h a t.a., se filtró la mezcla y se lavó la torta de filtro con heptano (50 ml) para dar

ácido (S)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico (10,9 g, rendimiento de un 97 %) como un sólido amarillento con un 96,2 % de pureza química (procedimiento de CL, véase el ejemplo 2), >99,9 % de pureza enantiómera y un 99,8 % de diastereómera (procedimiento de CL quiral, véase el ejemplo 2) que contenía un 0,8 % de óxido de trifenilfosfina residual.

Ejemplo 4

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



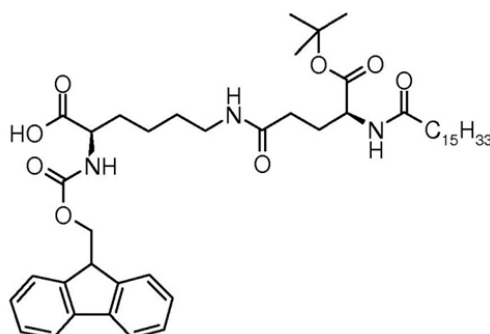
En un matraz de 3 bocas de 25 ml, se agitó una mezcla de ácido (S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanoico (500 mg, 1,12 mmol), 1-hidroxibenzotriazol (175 mg, 1,14 mmol), 1,1'-carbonyldiimidazol (200 mg, 1,23 mmol) y DCM (10 ml) a temperatura ambiente durante 90 min. A la suspensión blanca resultante, se 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. Se agitó la mezcla de reacción durante otros 60 min a temperatura ambiente para completar la conversión (determinada por medio de TLC (DCM/MeOH 95:5, material de partida R_F = 0, producto R_F = 0,2, detectado con UV a 254 nm). Luego, se le añadió agua (10 ml) a la mezcla y se separaron las fases. La capa acuosa se extrajo con DCM (30 ml) y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. Después de la evaporación del disolvente, se purificó el producto en bruto residual (983 mg) mediante cristalización a partir de éter dietílico para proporcionar (R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo (686 mg, 70 %) como un sólido blanco con un 94,2 % de pureza química (procedimiento de CL, véase a continuación) y >99,9 % de pureza enantiómera y diastereómera (procedimiento de CL quiral, véase el ejemplo 1c)

Pf 114 °C; IE-EM: m/z =832,54 (M+H)⁺.

Procedimiento de CL: columna de fenilo X-Bridge, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 µm; fase móvil, A: agua/NCMe (95:5), B: NCMe, C: ácido fórmico al 0,1 % en agua; flujo: 2 ml/min; gradiente de 65/25/10 (A/B/C) a 10/80/10 (A/B/C) en 10 min, 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-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo)).

Ejemplo 5

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



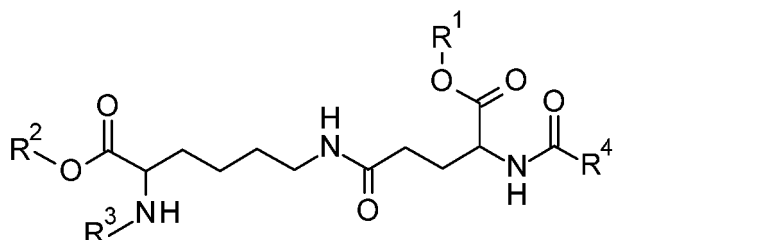
En un matraz de 3 bocas de 25 ml, se agitó una mezcla de (R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo (675 mg, 0,76 mmol), fenilsilano (351 mg, 3,14 mmol), tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (20,0 mg, 0,02 mmol) y DCM (7 ml) a 10 °C. En cuanto a TLC (DCM/MeOH 95:5, material de partida R_F = 0,8, producto R_F = 0,2, detectado con UV a 254 nm), después de 25 min la conversión se había completado. Después de 15 min adicionales, se diluyó la mezcla de reacción con DCM (10 ml) y se lavó sucesivamente con agua (10 ml), una solución acuosa de dietilditiocarbamato de sodio (0,5 %, 10 ml) y salmuera (10 ml). La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó con rotación hasta sequedad para dar ácido (R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico (631 mg) en bruto con un 87,4 % de pureza química (procedimiento de CL, véase a continuación), >99,9 % de pureza enantiómera y un 98,8 % de diastereómera (procedimiento de CL quiral, véase el ejemplo 2). El producto en bruto contenía un 6 % de óxido de trifenilfosfina como impureza principal. La cromatografía de fluidos supercríticos preparativa (procedimiento de SFC, véase el ejemplo 2) de una muestra de 603 mg del producto en bruto proporcionó ácido (R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico (348 mg, 59 %) puro como un sólido blanco con un 98,7 % de pureza química (procedimiento de CL, véase a continuación), >99,9 % de pureza enantiómera y un 99,4 % de diastereómera (procedimiento de CL quiral, véase el ejemplo 2).

Pf 125 °C; IE-EM: m/z =792,52 (M+H)⁺.

Procedimiento de CL: columna de fenilo X-Bridge, 50 x 4,6 mm, DI 2,5 μ m; fase móvil, A: agua/NCMe (95:5), B: NCMe, C: ácido fórmico al 0,1 % en agua; flujo: 2 ml/min; gradiente de 65/25/10 (A/B/C) a 10/80/10 (A/B/C) en 10 min, isocrático 10/80/10 (A/B/C) durante 2 min. Tiempos de retención: 8,33 min (ácido (R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoico), 9,35 min ((R)-2-(((9H-fluoren-9-il)metoxi)carbonilamino)-6-((S)-5-*terc*-butoxi-5-oxo-4-palmitamidopentanamido)hexanoato de alilo)).

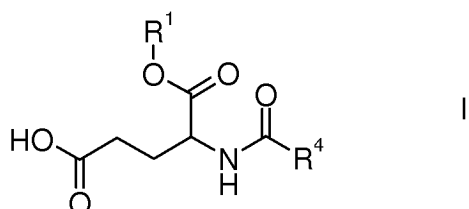
REIVINDICACIONES

- Procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula I

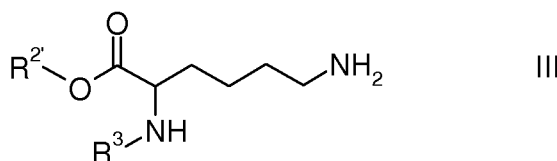


en la que R^2 es hidrógeno, que comprende

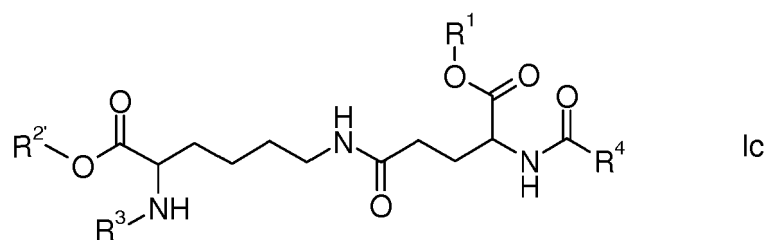
- acoplar el derivado de ácido glutámico de fórmula



en la que R^1 es hidrógeno o un grupo protector de éster y R^4 es alquilo C_{12-20} , o una sal del mismo con un derivado de lisina de fórmula



en la que R^2 es un grupo protector de éster y R^3 es hidrógeno o un grupo protector de amino, o una sal del mismo para formar un compuesto de fórmula



en la que R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como anteriormente y

- eliminar el grupo protector de éster R^2 .

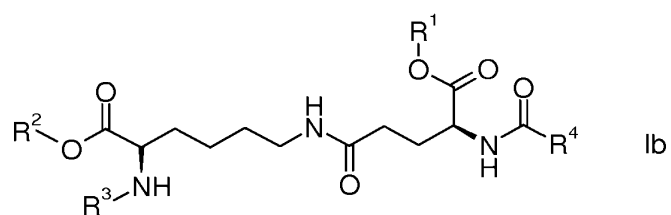
2. Procedimiento de la reivindicación 1, en el que el grupo protector de éster se selecciona de alquilo C_{1-4} , sustituido opcionalmente con fenilo, alquenilo C_{2-4} , piperidinilo o dimetilaminoboranilo.

3. Procedimiento de las reivindicaciones 1 o 2, en el que R^1 es t-butilo.

4. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R^3 es 9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo.

5. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R^4 es alquilo C_{14-16} .

6. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 5, los compuestos de fórmula



en la que,

- 5 R^1 , R^2 , R^3 y R^4 son como anteriormente y sus enantiómeros, diastereómeros y sales.
7. Procedimiento de las reivindicaciones 1 a 6, para el compuesto de fórmula I o Ib, en la que,
 R^1 es t-butilo, R^3 es 9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo y R^4 es alquilo C_{15} ;
- 10 8. Procedimiento de la reivindicación 7, para el compuesto de fórmula I o Ib, en la que,
 R^1 es t-butilo, R^3 es 9H-fluoren-9-ilmetoxicarbonilo y R^4 es pentadecilo.