

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA  
Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

476721 (10) AI

Concedida al Promotor de conformidad con los datos que figuran en la solicitud de patente y según el contenido de la memoria adjunta.  
Fecha de presentación: 19 DIC. 1978  
Número: 4105/43

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES:	(31) FECHA	(32) PAIS
(30) NUMERO		
52938/77	20 Diciembre 1977	Gran Bretaña
42727/78	1 Noviembre 1978	Gran Bretaña

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C07C // A61K	

(24) TITULO DE LA INVENCION

"UN PROCEDIMIENTO PARA LA PREPARACION DE DERIVADOS PEPTIDICOS"

(71) SOLICITANTE (S)

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., S.A.

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

BASILEA (Suiza)

(72) INVENTOR (ES)

Frank Ratcliffe Atherton, Michael John Hall, Cedric Herbert Hassall,  
Robert Wilson Lambert, Stuart Ringrose

(73) TITULAR (ES)

F. HOFFMANN-LA ROCHE & CIE., S.A.

(74) REPRESENTANTE

D. JAIME ISERN CUYAS, Agente Oficial de la Propiedad Industrial.

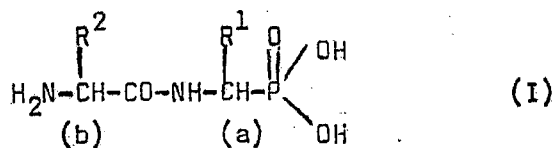
POOR  
QUALITY

5.

El presente invento se refiere a derivados peptídicos. Más particularmente el invento se refiere a derivados peptídicos de ácidos fosfónicos, a un procedimiento para su preparación y a los preparados farmacéuticos que los contienen.

Los derivados peptídicos proporcionados por el presente invento son compuestos de la fórmula general

10.



en donde  $\text{R}^1$  representa un átomo de hidrógeno o el grupo metílico o hidroximetílico o un grupo mono-, di- o trihalometílico;

15.

$\text{R}^2$  representa un grupo de alquilo inferior o hidroxialquilo-(alquilo inferior o guanidino-(alquilo inferior) distinto del grupo caracterizante de un grupo alfa-aminoácido del tipo que se encuentra normalmente en las proteínas;

20.

la configuración en el átomo de carbono designado como (a) es (R) cuando  $\text{R}^1$  tiene un significado distinto a un átomo de hidrógeno; y  
la configuración en el átomo de carbono designado como (b) es (L),

y sus sales aceptables en farmacia.

25.

El término "alquilo inferior" se utiliza

- .....
- en esta descripción para designar un grupo de alquilo de cadena lineal o de cadena ramificada que contiene, de preferencia, 8 átomos de carbono a lo sumo. Ejemplos de estos grupos de alquilo inferior son etilo, propilo, butilo, butilo terciario, pentilo, hexilo, etc. Ejemplos de grupos de hidroxil-(alquilo inferior designados con  $R^2$  son 2-hidroxietilo, 3-hidroxipropilo, 4-hidroxibutilo y similares. El término "halo" significa flúor, cloro, bromo o yodo, siendo ejemplos de los grupos halometílicos antes citados el clorometilo, diclorometilo, trifluorometilo, etc.
- 5.
- 10.

- Cuando en la fórmula I  $R^1$  tiene un significado distinto a un átomo de hidrógeno, la configuración en el átomo de carbono designado como (a) es (R); es decir, la configuración que se obtendría sustituyendo el grupo carbonílico de un alfa-aminoácido que se encuentra en estado natural por una fracción de fósforo.
- 15.

- Una clase preferida de derivados peptídicos proporcionados por el presente invento comprende los compuestos de la fórmula I en donde  $R^1$  representa un átomo de hidrógeno o el grupo metílico y sus sales aceptables en farmacia. Asimismo se prefieren los compuestos de la fórmula I en donde  $R^2$  representa un grupo de alquilo inferior, especialmente el grupo de etilo, n-propilo, o n-butilo.
- 20.

- Ejemplos de compuestos de la fórmula I anterior son:
- 25.



- .....
5.  $R^5$  representa un grupo amínico protegido: .....  
 $R^{20}$  tiene cualquiera de los valores asignados a  $R^2$  anterior o representa un grupo de hidroxila (alquilo inferior) o guanidino (alquilo inferior correspondientes en forma protegida; y .....  
la configuración en el átomo de carbono designada como (b) es (L),  
disociando el grupo protector o grupos protectores presentes en el producto de condensación y, si se desea, convirtiendo un compuesto resultante de la fórmula I en una sal aceptable en farmacia.
- 10.
15. El grupo amínico protegido designado con  $R^5$  en un material de partida de alfa-aminoácido protegido de la fórmula III anterior puede ser cualquier grupo amínico protegido bien conocido en la química de los péptidos. En una modalidad preferida del procedimiento proporcionado por el presente invento el grupo amínico se protege con un grupo aralcoxycarbonílico, particularmente el grupo benciloxycarbonílico, o el grupo butoxycarbonílico terciario. Sin embargo, el grupo amínico puede protegerse también con, por ejemplo, un grupo formílico, tritílico, trifluoroacetílico o 2-(difenilil)-isopropiloxycarbonílico o puede estar en forma de un grupo ftalimídico. El grupo protector presente en un grupo hidroximetílico protegido  $R^{10}$  o un grupo de hidroxila (alquilo inferior) protegido  $R^{20}$  puede ser cualquier gru-
- 20.
- 25.

.....  
pu protector hidroxílico convencional; por ejemplo, un grupo  
aralcoxicarbonílico (como el grupo benciloxycarbonílico), un  
grupo de alcanilo inferior (como los grupos acetílico, pro-  
pionílico y similares), un grupo aroílico (como el grupo  
5. benzóílico), un grupo de alquilo inferior (como el grupo  
tercibutílico) o un grupo de aralquilo inferior (como el fru-  
po bencílico).  
.....

La condensación de un compuesto de la fór-  
mula II con un alfa-aminoácido protegido de la fórmula III  
10. puede llevarse a cabo siguiendo métodos de por sí conocidos  
en la química de los péptidos; por ejemplo, según el método  
de anhídrido mixto, azida, éster activado, cloruro de ácido,  
carbodiimida o EEDQ (1-etoxicarbonil-2-etoxi-1,2-dihidroquino-  
lina).

15. En un método puede condensarse un compuesto  
de la fórmula II con un alfa-aminoácido protegido de la fór-  
mula III en donde el grupo carboxílico es un radical de an-  
hídrido mixto formado con un ácido orgánico o inorgánico.  
Apropiadamente un alfa-aminoácido protegido de la fórmula  
20. III de esta índole se trata con una base terciaria tal como  
una tri(alquilo inferior)amina (como trietilamina) o N-etil-  
morfolina en un disolvente orgánico inerte (como tetrahydro-  
furano, 1,2-dimetoxietano, diclorometano, tolueno, éter de  
petróleo o similares) y la sal obtenida se hace reaccionar con  
25. un cloroformato apropiado (como un cloroformato de alquilo

inferior tal como cloroformato de etilo o cloroformato de isobutilo) a una temperatura baja. El anhídrido mixto así obtenido se condensa luego apropiadamente in situ con un compuesto de la fórmula II.

5. En otro método puede condensarse un compuesto de la fórmula II con un alfa-aminoácido protegido de la fórmula III en donde el grupo carboxílico está en forma de una azida ácida. Esta condensación se lleva a cabo, de preferencia, en un disolvente orgánico inerte, tal como dimetilformamida o acetato de etilo a baja temperatura.

10. En todavía otro método, un compuesto de la fórmula II puede condensarse con un alfa-aminoácido protegido de la fórmula III en donde el grupo carboxílico está en forma de un grupo de éster activo (por ejemplo el grupo estérico de 4-nitrofenilo, 2,4,5-triclorofenilo o N-hidroxisuccinimida). Esta condensación se lleva a cabo, apropiadamente, en un disolvente inerte, tal como dimetilformamida acuosa, o en donde  $R^3$  y  $R^4$  en un compuesto de la fórmula II representan ambos un grupo de alcoxilo inferior, también en un alcohol inferior tal como etanol acuoso.

20. En otro método, un compuesto de la fórmula II puede condensarse con un alfa-aminoácido protegido de la fórmula III en donde el grupo carboxílico está en forma de un cloruro de ácido. Esta condensación se lleva, a cabo, de preferencia, en presencia de una base y a baja temperatura.

En todavía otro método, un compuesto de la fórmula II puede condensarse con un alfa-aminoácido protegido de la fórmula III en presencia de una carbodiimida (por ejemplo dicitclohexilcarbodiimida) o EEDQ. Esta condensación puede llevarse a cabo en un disolvente orgánico inerte (por ejemplo cloruro de metileno o un alcohol inferior tal como metanol, etanol, etc.) a la temperatura del ambiente o a una temperatura por debajo de la temperatura del ambiente.

La disociación del grupo protector, o grupos protectores del producto de condensación se lleva a cabo siguiendo métodos de por sí conocidos; es decir, métodos actualmente en uso o descritos en la literatura sobre la disociación de grupos protectores. Así pues, por ejemplo, un grupo de aralcoxycarbonilo (como benciloxycarbonilo), el grupo terciobutoxycarbonilo o el grupo 2-fenil-isopropiloxycarbonilo puede disociarse mediante hidrólisis (por ejemplo mediante tratamiento con bromuro de hidrógeno en ácido acético glacial). Un grupo de aralcoxycarbonilo (por ejemplo benciloxycarbonilo) puede disociarse también mediante hidrogenólisis (por ejemplo en presencia de carbón paladiado u óxido de platino). El grupo de terciobutoxycarbonilo o 2-difenil-isopropiloxycarbonilo puede disociarse también utilizando cloruro de hidrógeno en dioxano. Un grupo de tritilo puede disociarse, por ejemplo, mediante tratamiento con ácido acético diluido. Un grupo ftalimido puede convertirse en el gru-

- po amínico mediante hidrazinolisis. Los grupos protectores de alquilo inferior designados con  $R^3$  y  $R^4$  pueden disociarse mediante tratamiento con bromuro de hidrógeno en ácido acético glacial o utilizando trimetilclorosilano o trimetilbromosilano seguido de hidrólisis acuosa. Se apreciará que cuando está presente mas de un grupo protector la disociación de los grupos protectores puede llevarse a cabo en una sola etapa o en mas de una etapa dependiendo de la naturaleza de dichos grupos. Sin embargo, se prefiere utilizar grupos protectores que puedan disociarse en una sola etapa.
- 5.
- 10.

- Los compuestos de la fórmula I anterior son anfotéricos y forman sales aceptables en farmacia con ácidos fuertes aceptables en farmacia (por ejemplo ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido metansulfónico, ácido paratoluensulfónico, etc.) y bases (por ejemplo hidróxido sódico, hidróxido potásico, etc.).
- 15.

Los materiales de partida de las fórmulas II y III son compuestos conocidos o pueden prepararse de modo análogo a la preparación de compuestos conocidos.

- 20.
- Los derivados peptídicos proporcionados por el presente invento poseen una actividad antibacteriana contra una amplia gama de bacterias gram-positivas y gram-negativas tal como Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Serratia marcescens, Klebsiella aerogenes, Streptococcus faecalis, Haemophilus influenzae, Bacillus subtilis, Salmonella
- 25.

typhimurium, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa y Shigella sonnei. Además, los presentes derivados peptídicos potencian la actividad de antibióticos, incluyendo los antibióticos de penicilina y cefalosporina y D-cicloserina. Entre los antibióticos que son potenciados por los presentes derivados peptídicos pueden citarse amoxicilina, cefradina, cefalotina, cefalexina, carbenicilina, ampicilina, penicilina G, sulbenicilina, cefazolina, cefoxitina, rifampicina, [(R)-1-(2-furoiloxi)-3-metilbutil]penicilina, acilo (6R)-6-[[hexahidro-1H-azepin-1-il)-metilen]amino] penicilánico, (6R)-6-[[hexahidro-1H-azepin-1-il)metilen]amino] penicilinato de (pivaloiloxi)metilo, cefamandol, cefaloridina, cefaloglicina, feneticilina, meticilina, propicilina, ticaracilina, sal de amoxicilina-arginina, fosfomicina, vancomicina y kanamicina.

5.

10.

15.

Así pues, el presente invento proporciona también un preparado farmacéutico que contiene un derivado peptídico antes citado y, si se desea, un antibiótico, en asociación con un material de vehículo farmacéutico compatible.

20.

El material de vehículo presente en los preparados farmacéuticos proporcionados por este invento puede ser cualquier material de vehículo sólido o líquido que sea compatible con los derivados peptídicos antes citados, y con los antibióticos cuando éstos estén presentes, y que sea apropiado para la administración terapéutica. El material de vehículo puede ser un material de vehículo orgánico o inorgánico

25.

- que sea apropiado para administración enteral (por ejemplo oral) o parenteral. Ejemplos de estos materiales de vehículo son agua, gelatina, lactosa, almidones, estearato de magnesio, talco, aceites vegetales, goma arábica, polialquilenglicoles, vaselina, etc. Los preparados farmacéuticos pueden adoptar forma sólida (por ejemplo de pastillas, grageas, supositorios o cápsulas) o forma líquida, (por ejemplo de soluciones, suspensiones o emulsiones). Los preparados farmacéuticos pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales tal como esterilización y pueden contener coadyuvante tal como agentes conservadores, agentes estabilizantes, agentes humectantes, agentes emulgentes, sales para variar la presión osmótica o amortiguadores. Cuando se utiliza un amortiguador el pH del preparado farmacéutico variará, evidentemente, dentro de una gama que es bien conocida en la práctica farmacéutica.
- 5.
- 10.
- 15.

Quando los presentes preparados farmacéuticos contienen un derivado peptídico y un antibiótico, la relación ponderal del derivado peptídico frente al antibiótico puede variar dentro de amplios límites. En general los preparados farmacéuticos pueden contener el derivado peptídico y el antibiótico en una relación ponderal comprendida entre 1:100 y 100:1, preferentemente en una relación ponderal comprendida entre 1:64 y 64:1 y especialmente en una relación ponderal comprendida entre 1:16 y 16:1.

20.

25. La dosis diaria del derivado peptídico adminis-

- trado solo o en combinación con un antibiótico variará dentro de amplios límites dependiendo de factores tales como el derivado peptídico particular elegido, el antibiótico particular elegido, la vía de administración y la infección que deba tratarse. Por ejemplo, cuando se administra un derivado peptídico solo, una dosis diaria para administración oral puede ascender entre alrededor de 2000 mg y 4000 mg y una dosis diaria para administración parenteral puede ascender entre alrededor de 800 mg y 2000 mg. Cuando se administra un derivado peptídico en combinación con un antibiótico, una dosis diaria para administración oral puede ascender entre alrededor de 750 mg y 1500 mg de una combinación del derivado peptídico y el antibiótico y una dosis diaria para administración parenteral puede ascender entre alrededor de 200 mg y 2000 mg de una combinación de derivado peptídico y antibiótico. Se apreciará que la dosis diarias pueden administrarse en una dosificación simple o en dosificaciones divididas y que las dosificaciones citadas anteriormente pueden variar en mas o en menos según las exigencias individuales y ajustarse a las exigencias de una situación particular según lo determine el facultativo.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.

Los ejemplos que siguen ilustran el procedimiento proporcionado por el presente invento.

EJEMPLO 1.

(A) La preparación del material de partida:

25.

Se disolvieron 5,0 g (48 mmol) de ácido L-al-

- fa-aminobutírico en 24 cc de hidróxido sódico 2-N y se enfrió la solución a 0°C. Se adicionaron 12,3 g (72 mmol) de cloroformato de bencilo y 18 cc (72 mmol) de hidróxido sódico 4-N, de forma alternada y en porciones mientras se agitaba durante un período de media hora de modo que la temperatura no excediera de 10°C y que el pH se mantuviera a alrededor de 11. Se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura del ambiente de forma lenta y luego se agitó durante una noche. Se extrajo la mezcla con 50 cc de éter dietílico y se separaron las fases orgánica y acuosa. Se acidificó la fase acuosa hasta pH 2 con ácido clorhídrico 5-N para obtener una mezcla oleosa. Esta mezcla se extrajo con dos porciones de 75 cc de éter dietílico. Se secaron los extractos sobre sulfato sódico y se evaporaron, lo que dió 9,6 g de un aceite incoloro. Este aceite se disolvió en 10 cc de acetato de etilo y se adicionaron 100 cc de éter de petróleo (punto de ebullición 40°-60°C), lo que dió una solución oleosa que se dejó reposar a 0°C. Se obtuvo un precipitado cristalino blanco que se separó por filtración, se lavó con éter de petróleo y se secó, lo que dió 8,40 g (73%) de ácido N-benciloxicarbonil-L-alfa-aminobutírico de punto de fusión 76°-73°C;  $[\alpha]_D^{20} = -10,92$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -20,32$  (c = 1% en etanol).

(B) El procedimiento:

- (i) Se disolvió en 75 cc de dimetoxietano, mientras se agitaba, 8,30 g (35 mmol) de ácido N-benciloxicarbonil-L-alfa-aminobutírico y 4,02 g (35 mmol) de N-hidro-

xisuccinimida y se enfrió la solución hasta 0°C. Se adicionaron 7,94 g (38,5 mmol) de dicitclohexilcarbodiimida y se agitó la mezcla a 0°C durante 2 horas y luego se dejó reposar a 0°C durante una noche. El subproducto sólido se separó por filtración. Se evaporó el filtrado, lo que dió éster de N-hidroxisuccinimida de ácido N-benciloxicarbonil-L-alfa-aminobutírico en forma de una goma rígida que se utilizó sin ulterior purificación.

- .....
10. (ii) Se disolvieron 4,38 g (35 mmol) de ácido (1R)-1-aminoetilfosfónico en una mezcla de 40 cc de agua, 7,07 g (70 mmol) de trietilamina y 40 cc de dimetilformamida, mientras se agitaba. Se enfrió la solución resultante hasta 0°C y se instiló rápidamente una solución de 35 mmol de éster N-hidroxisuccinimídico de ácido N-benciloxicarbonil-L-alfa-aminobutírico. Se agitó la mezcla a 0°C y luego se dejó que alcanzara la temperatura del ambiente mientras se agitaba durante una noche. Se filtró la mezcla para separar una pequeña cantidad de sólido. Se evaporó el filtrado bajo un vacío de bomba de aceite. Se disolvió el residuo en una mezcla de 30 cc de metanol y 10 cc de agua y se hizo descender por una columna de resina de intercambio catiónico (B.D.H., Zerolit 225, SRC 13,  $RSO_3H$ ; 150 g; recientemente regenerado en el ciclo ácido), llevándose a cabo la elución con el mismo disolvente. Se recogió el eluato ácido y se evaporó, lo que dió un sólido blanco ligeramente gomoso.
- 15.
- 20.
- 25.

- Este sólido se trituró con 100 cc de éter dietílico y se separó por decantación el éter dietílico. Se disolvió el sólido residual en una mezcla de 100 cc de metanol y 50 cc de agua y se tituló la solución resultante a pH 4,5 con bencilamina acuosa 4-N (título 8,0 cc; teoría 8,75 cc). La mezcla se solidificó hacia el final de la titulación, y el precipitado se separó por filtración, se lavó con agua y se secó, lo que dió 8,84 g de la sal monobencilamínica de ácido (1R)-1-[(N-benciloxicarbonil-L-alfa-aminobutiril)amino]-etilfosfónico de punto de fusión 228-231°C (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -31,32$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -1052$  (c = 1% en ácido acético glacial).
- (iii) Se agitó a la temperatura del ambiente, durante 6 horas, 8,7 g (19,3 mmol) de la sal monobencilamínica de ácido (1R)-1-[(N-benciloxicarbonil-L-alfa-aminobutiril)amino]-etilfosfónico con 20 cc de una mezcla de bromuro de hidrógeno al 45% en ácido acético glacial y 8 cc de ácido acético glacial. Se adicionaron 100 cc de éter, precipitando una goma. Esta goma se lavó mediante decantación con 100 cc de éter dietílico y se disolvió en 100 cc de metanol. Se agitó la solución y se adicionaron dos porciones de 5 cc de óxido de propileno hasta un pH de alrededor de 5, obteniéndose así un precipitado blanco. Se dejó reposar la mezcla durante una noche, se separó por filtración el precipitado, se lavó sucesivamente con metanol y éter dietílico y se secó lo que dió 4,05 g de ácido (1R)-1-(L-alfa-aminobutiri-
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.

lamino)-etilfosfónico bruto de punto de fusión 298°C (descomposición). La recristalización en una mezcla de 750 cc de agua y 1500 cc de etanol dió un precipitado cristalino blanco que se lavó con etanol y luego con éter dietílico y a continuación se secó en vacío. De este modo se obtuvo 3,58 g (88%) de ácido (1R)-1-(L-alfa-aminobutirilamino)-etil-fosfónico de punto de fusión 296°C-298°C (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -33,1^\circ$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -145^\circ$  (c = hidróxido sódico 1-N, recién preparado).

EJEMPLO 2.

10. (A) La preparación del material de partida.

Se trató 5,0 g (42,5 mmol) de L-norvalina con 10,2 g (60 mmol) de cloroformato de bencilo e hidróxido sódico en la forma descrita en el ejemplo 1(A). El producto oleoso bruto se cristalizó en una mezcla de 10 cc de éter dietílico y 20 cc de éter de petróleo (punto de ebullición 40°C-60°C), lo que dió 8,2 g (77%) de N-benciloxicarbonil-L-norvalina de punto de fusión 85°C-87°C;  $[\alpha]_D^{20} = -9,9^\circ$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -26,5^\circ$  (c = 1% en etanol).

(B) El procedimiento:

20. (i) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1(B)(i), a partir de 8,1 (32 mmol) de N-benciloxicarbonil-L-norvalina, 3,68 g (32 mmol) de N-hidroxisuccinimida y 7,21 g (35 mmol) de ciclohexilcarbodiimida se obtuvo, después de trituración del producto oleoso con 25 cc de etanol, un producto cristalino blanco. La adición de 25 cc de éter de pe-

25.

tróles (punto de ebullición 40<sup>o</sup>-60<sup>o</sup>C) y filtración, dió 9,82 g de éster de N-benciloxycarbonil-L-norvalin-N-hidroxisuccinimida de el cual se utilizó directamente en la etapa siguiente. Una muestra purificada fundió a 95-97<sup>o</sup>C y mostró un giro óptico  $[\alpha]_D^{20} = -35,1^{\circ}$  (c = 1% en etanol).

5. (ii) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1(B) (ii), a partir de 9,82 g (28 mmol) de éster de N-benciloxycarbonil-L-norvalin-N-hidroxisuccinimida, pero llevando a cabo la titulación con una mezcla de 150 cc de metanol y 30 cc de agua en lugar de éter dietílico, se obtuvo 7,61 g de la sal monobencilamínica del ácido (1R)-1-[(N-benciloxycarbonil-L-norvanil)amino]-etilfosfónico de punto de fusión 225<sup>o</sup>-230<sup>o</sup>C (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -29,9^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -98,8^{\circ}$  (c = 1% en ácido acético). La evaporación del filtrado y trituración del residuo con 100 cc de agua caliente, seguido de filtración y lavado con etanol y luego con éter dietílico, dió una segunda cosecha de 1,99 g de la sal monobencilamínica del ácido (1R)-1-[(N-benciloxycarbonil-L-norvalil)amino]-etilfosfónico de punto de fusión 231<sup>o</sup>-234<sup>o</sup>C (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -29,7^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -99,2^{\circ}$  (c = 1% en ácido acético). El rendimiento total fue de 9,60 g (73%).
- 10.
- 15.
- 20.

25. (iii) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B)(iii), a partir de 9,0 g (19 mmol) de la sal monobencilamínica del ácido (1R)-1-[(N-benciloxycarbonil-L-nor-

valil)amino]-etilfosfónico se obtuvo, después de recristalización en una mezcla de 80 cc de agua y 160 cc de etanol, 3,54 g (82%) de ácido (1R)-1-(L-norvalilamino)-etilfosfónico de punto de fusión 260<sup>o</sup>-262<sup>o</sup>C (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -19,5^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -75,3^{\circ}$  (c = 1% en agua).

5.

EJEMPLO 3.

(A) La preparación del material de partida:

Se trataron 5,0 g (38mmol) de L-norleucina con 9,7 g (57 mmol) de bencil-clozormato e hidróxido sódico en forma análoga a la descrita en el ejemplo 1(A). El producto, N-benciloxycarbonil-L-norleucina, se aisló en forma de un aceite, el cual se utilizó en el procedimiento sin cristalización.

10.

(B) El procedimiento:

15.

(i) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B)(i), a partir de unos 38 mmol de N-benciloxycarbonil-L-norleucina, 4,38 g (38 mmol) de N-hidroxisuccinimida y 8,65 g (42 mmol) de dicitclohexilcarbodiimida se obtuvo, después de trituración del producto oleoso bruto con 100 cc de éter destilado, 7,47 g de éster de N-benciloxycarbonil-L-norleucina-N-hidroxisuccinimida en forma de un sólido cristalino de punto de fusión 82<sup>o</sup>-84<sup>o</sup>C;  $[\alpha]_D^{20} = -20,7^{\circ}$  (c = 1% en acetona).

20.

25.

(ii) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B)(ii), a partir de 7,40 g (20,5 mmol) de éster de

5. N-benciloxycarbonil-L-norleucin-N-hidroxisuccinimida y 2,56 g (20,5 mmol) de ácido (1R)-l-aminoetilfosfónico, pero llevando a cabo la etapa de intercambio iónico en metanol/agua (5:1) en lugar de metanol/agua (3:1), se obtuvo, después de evaporación y trituración del producto bruto con éter, un sólido que se digirió con 150 cc de agua caliente, se enfrió y se filtró, lo que dió 5,64 g (74%) de ácido (1R)-l-[(N-benciloxycarbonil-L-norleucil)amino]-etil-fosfónico de punto de fusión 192-194°C (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -37,8^\circ$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -126,5^\circ$  (c = 0,5% en ácido acético).

10. (iii) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1(B) (iii), a partir de 5,20 g (14,0 mmol) de ácido (1R)-l-[(N-benciloxycarbonil-L-norleucil)amino]-etilfosfónico se obtuvo, después de recristalización en una mezcla de 70 cc de agua y 280 cc de etanol, 3,02 g (91%) de ácido (1R)-l-(L-norleucilamino)-etilfosfónico de punto de fusión 254-256°C (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -18,6^\circ$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -70,1^\circ$  (c = 1% en agua).

20. El ejemplo que sigue ilustra un preparado farmacéutico típico que contiene los derivados peptídicos proporcionados por el presente invento.

EJEMPLO 4.

25. (a) De modo análogo al ejemplo 1 (B)(ii) y el ejemplo 2 (B)(ii), a partir de 17,4 g (50 mmol) de éster N-hidroxisuccinimídico de N-benciloxycarbonil-L-norvalina y

- 5,55 g (50 mmol) de ácido aminometilfosfónico, pero llevando a cabo la titulación con bencilamina en una mezcla de 250 cc de metanol y 50 cc de agua, se obtuvieron 17,3 g de la sal monobencilamínica bruta del producto deseado, de punto de fusión 195-198° (descomposición) (Cosecha 1). La evaporación del filtrado y recristalización del residuo en una mezcla de metanol (80 cc) y agua (20 cc) dió 2,19 g mas de producto esencialmente puro (cromatografía de capa delgada), con un punto de fusión de 180-185° (descomposición). El rendimiento total fue de 19,5 g (86%).

10. La recristalización de una muestra de 0,5 g de la cosecha 1 en 10 cc de agua caliente dió una cosecha de 0,39 g de la sal monobencilamínica pura de ácido (N-benciloxicarbonil-L-norvalil)amino-metilfosfónico de punto de fusión 203-205° (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -8,2^\circ$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -21,3^\circ$  (c = 0,5%, en ácido acético).

- (b) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B)(iii), a partir de 18,9 g (42 mmol) de la sal monobencilamínica de ácido (N-benciloxicarbonil-L-norvalil)aminometilfosfónico se obtuvo, después de recristalización en una mezcla de 80 cc de agua y 160 cc de etanol, 6,65 g (75%) de ácido L-(norvalilamino)-metilfosfónico de punto de fusión 273-275° (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = +61,2^\circ$ ,  $[\alpha]_{365}^{20} = +224^\circ$  (c = 0,54%, H<sub>2</sub>O).

25. EJEMPLO 5.

Se agitó N-benciloxycarbonil-L-norvalina (45,4 g, 0,181m) en solución de dicloruro de metileno (200 cc) mientras se adicionaba clorhidrato de dimetil-aminometilfosfonato (31,76 g., 0,181 m). Se enfrió la suspensión resultante hasta -12°C mientras se instilaba trietilamina seca (25,3 cc, 0,181 m). Después de completada la adición se agitó la mezcla fría durante 15 minutos antes de adicionarse rápidamente E.E.D.Q. (56,8 g. 0,23 m) en dicloruro de metileno (100 cc). Se agitó esta mezcla en frío durante 2 horas y luego se agitó a la temperatura del ambiente durante el fin de semana.

Se lavó la mezcla con agua (100 cc), luego con ácido clorhídrico 1N (4 veces, con 100 cc cada vez). El total de ácido lavado se reextrajo con dicloruro de metileno (2 x 50 cc). Se lavó de nuevo la solución orgánica combinada con agua (100 cc) y por último con solución de  $\text{KHCO}_3$  al 15% (3 x 100 cc), luego se secó sobre sulfato sódico anhidro. Se filtró la solución y se evaporó. El aceite residual se re-evaporó con benceno, lo que dió un residuo con un peso de 78,13 g.

En este momento se apreciaron los primeros signos de cristalización. Se trituró el aceite con éter anhidro (200 cc) en el que se disolvió. La cristalización se diluyó muy pronto en la solución. Se refrigeró la solución durante 1 hora, se separó por filtración el sólido, se lavó con éter y se secó hasta peso constante en vacío. Se obtuvieron 58,2 g de un material con un punto de fusión de 77-80°C.

Estos se recogieron en acetato de etilo calien-

te (200 cc) y se filtró la solución. Al filtrado enfriado se adicionó éter (200 cc). Se sembró la mezcla y se refrigeró durante una noche. Se separó por filtración el sólido, se lavó con éter y se secó en vacío, lo que dió 50,64 g de un residuo de punto de fusión 82-84°C.

5.

Se agitó, durante 5 horas, 37,2 g de [(N-benciloxicarbonil-L-norbalil)amino]dimetilfosfonato en bromuro de hidrógeno al 45% en ácido acético (120 cc). Inicialmente la evolución de dióxido de carbono fue muy rápida. Se adicionó éter (500 cc) y éste precipitó como un aceite. Se agitó la mezcla durante 40 minutos y luego se dejó sedimentar. Se separó por decantación el éter y se lavó el aceite dos veces mas con éter, 500 cc cada vez.

10.

Se recogió el aceite en metanol (300 cc) y se agitó la solución mientras se adicionaba óxido de propileno (40 cc). Después de unos 5 minutos comenzó la cristalización del producto. Se ajustó la mezcla hasta un pH de 4 y se refrigeró durante una noche.

15.

Se separó por filtración el sólido y se lavó bien con metanol y luego con éter. Se secó en vacío, lo que dió un residuo de 20,13 g, con un punto de fusión de 288-289°C (d).

20.

Este se recogió en agua caliente (200 cc) y se filtró. Al filtrado se adicionaron 400 cc de etanol. Con el reposo cristalizó el material. Se refrigeró durante 2 horas.

25.

Se separó por filtración el sólido, se lavó con etanol y luego con éter y se secó sobre pentóxido de fósforo en vacío. Se obtuvieron 16,66 g de ácido (L-norvalilamino)-metilfosfónico de punto de fusión 293-4°C (d).  $[\alpha]_D^{20} = +62,7^{\circ}$  (c = 0,5% en agua).

5.

EJEMPLO 6.

(a) Se trató L-nitro-homoarginina (2,33 g, 10 mmol, punto de fusión 227-230°C (desc.)) con 3,41 g (20 mmol) de cloroformato de bencilo e hidróxido sódico en la forma descrita en el ejemplo 1 (A). El producto oleoso bruto se extrajo de la solución acidificada con acetato de etilo (dos veces con 100 cc) en lugar de con éter dietílico. El producto oleoso bruto, N-benciloxicarbonil-omega-nitro-L-homoarginina, obtenido después de secado sobre sulfato sódico y evaporación, se obtuvo en forma de una goma que se utilizó en la etapa siguiente sin ulterior purificación.

10.

(b) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B)(i), pero utilizando dimetil-formamida (50 cc) como disolvente, a partir de alrededor de 4,2 g (aproximadamente 10 mmol) de la N-benciloxicarbonil-omega-nitro-L-homoarginina (obtenida como anteriormente), 1,15 g (10 mmol) de N-hidroxisuccinimida y 2,27 g (11 mmol) de dicitclohexilcarbodiimida se obtuvo después de separación de 1,73 g de dicitclohexileno y evaporación del filtrado, el producto bruto éster de N-hidroxisuccinimida de N-benciloxicarbonil-ome-

20.

25.

ga-nitro-L-homoarginina en forma de un aceite amarillo que se utilizó en la etapa siguiente sin ulterior purificación.

5. (c) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B)(ii), se hizo reaccionar alrededor de 10 mmol de éster N-hidroxisuccinimídico de N-benciloxicarbonil-omega-nitro-L-homoarginina con 1,25 g de ácido (1R)-1-aminoetilfosfónico, pero llevando a cabo el tratamiento con resina de intercambio de iones  $RSO_3H$  en 5:1 MeOH:H<sub>2</sub>O en lugar de 3:1. Se evaporó el eluato ácido y se repartió entre agua (300 cc) y acetato de etilo (150 cc) cuando se obtuvo cierto material insoluble. Esto se separó por filtración y se secó, lo que dió 1,36 g de producto bruto con un punto de fusión de 190-193° (descomposición), caracterizado mediante cromatografía de capa delgada y R.M.N. (Cosecha 1).

15. Se separaron las fases de disolvente del filtrado, se evaporó la fase acuosa hasta sequedad y se trituró el residuo con acetona (50 cc), lo que dió un precipitado blanco. Este precipitado se separó por filtración, se lavó con acetona, y se secó, lo que dió, 1,43 g mas (punto de fusión 184-8° (desc.)) del producto, ácido (1R)-1[(N-benciloxicarbonil-omega-nitro-L-homoarginil)amino]-etilfosfónico (Cosecha 2). Las cosechas 1 y 2 se utilizaron en la etapa siguiente sin ulterior purificación.

20. (d) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B)(iii), a partir de 3,7 g (unos 5,7 mmol) de ácido (1R)-

25.

5. -[(N-benciloxicarbonil-omega-nitro-L-homoarginil)amino]-etilfosfónico (Cosechas 1 y 2 anteriores) se obtuvo, después de recristalización en una mezcla de 15 cc de agua y 150 cc de etanol, 1,23 g de ácido (1R)-1-(L-omega-nitro-homoarginilamino)-etilfosfónico de punto de fusión alrededor de 190° (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -10,6^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -43,5^{\circ}$  (c = 0,53%, H<sub>2</sub>O).

10. La evaporación del filtrado y recristalización en agua (5 cc) y etanol (100 cc) dió 0,14 g más de producto con un punto de fusión de alrededor de 190° (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -11,2^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} = -43,2^{\circ}$  (c = 0,51%, H<sub>2</sub>O).

El rendimiento total fue de 1,37 g (71%).

15. (3) Se recogió 1,2 g (3,5 mmol) de ácido (1R)-1-L-omega-nitro-homoarginilamino-etilfosfónico, preparado como se ha indicado anteriormente, en 50 cc de agua y se adicionaron 0,35 g de carbón paladiado al 10%. Se hidrogenó la mezcla a la temperatura y presión del ambiente hasta que cesó la absorción (unas 5 horas). Se filtró la mezcla para separar el catalizador y se evaporó el filtrado. El residuo sólido gomoso se recogió en 15 cc de agua fría y se filtró la solución y se trató con 120 cc de etanol, lo que dió un precipitado que se dejó reposar durante 1 hora y luego se separó por filtración. Se obtuvieron 0,76 g de ácido (1R)-1-(L-homoarginilamino)etilfosfónico de punto de fusión alrededor de

20.

25.

195<sup>o</sup> (desc.);  $[\alpha]_D^{20} = -11,9^{\circ}$  (c = 0,5%, H<sub>2</sub>O).

EJEMPLO 7.

- (i) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B) (ii), a partir de una solución de 45 mmol de éster N-hidroxisuccinimídico de ácido N-benciloxycarbonil-L-alfa-aminobutírico en 40 cc de dimetilformamida y 4,44 g (40 mmol) de ácido aminometilfosfónico, pero utilizando metanol:agua de 4:1 en lugar de 2:1, se obtuvo 14,1 g de la sal monobencilamínica de ácido [(N-benciloxycarbonil-L-alfa-aminobutiril)amino]-metilfosfónico de punto de fusión 185-198<sup>o</sup> (descomposición). La evaporación del filtrado y recristalización del residuo en una mezcla de 50 cc de agua y 50 cc de metanol dió, en forma de un precipitado cristalino blanco, 1,6 g mas de producto de fusión 205-208<sup>o</sup> (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} -6,1^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} -21,1^{\circ}$  (c = 0,5%, CH<sub>3</sub>COOH).
- (ii) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B) (iii), a partir de 15,6 g (unos 36 mmol) de la sal monobencilamínica de ácido [(N-benciloxycarbonil-L-alfa-aminobutiril)amino]-metilfosfónico, preparado como se ha indicado anteriormente, se obtuvo 5,92 g de producto bruto de punto de fusión 253-255<sup>o</sup> (descomposición). La recristalización de una mezcla de 60 cc de agua y 120 cc de etanol dió 4,93 g de ácido L-alfa-aminobutirilamino)-metilfosfónico de punto de fusión 263-265<sup>o</sup> (desc.);  $[\alpha]_D^{20} +57,0^{\circ}$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} +21,2^{\circ}$  (c = 0,5%, H<sub>2</sub>O).

EJEMPLO 8.

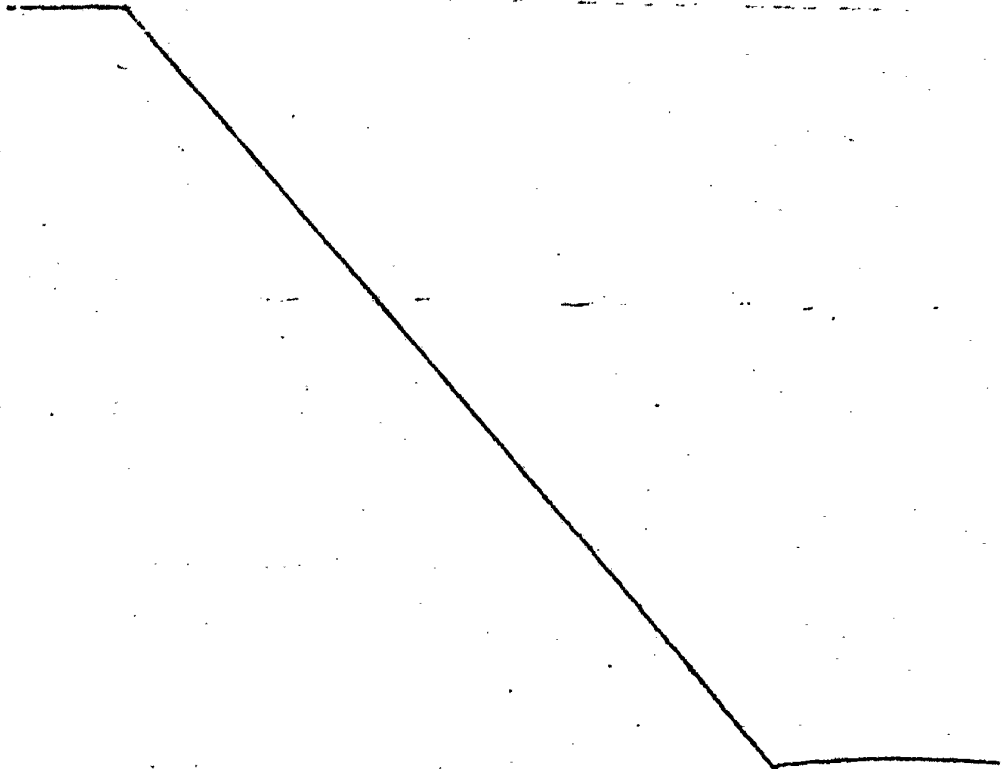
- (i) De modo análogo al descrito en el ejemplo 3 (B) (ii), a partir de 2,52 g (7 mmol) de éster N-hidroxisuccinimida de N-benciloxicarbonil-L-norleucina y 0,78 g (7 mmol) de ácido aminometilfosfónico, pero llevando a cabo la etapa de intercambio iónico en metanol/agua de 2:1 en lugar de 5:1 y titulando el eluato ácido directamente con bencilamina (omitiendo la evaporación y trituración con éster seguido de nueva disolución en metanol/agua), se obtuvo, después de agitación con 100 cc de acetona, 0,56 g de la sal monobencilamínica de ácido [(N-benciloxicarbonil-L-norleucil)amino]metilfosfónico con un punto de fusión de 185-189° (descomposición). La evaporación del filtrado y la trituración con 50 cc de éster dietílico dió 1,9 g más de producto, punto de fusión 170-180° (descomposición).
- (ii) De modo análogo al descrito en el ejemplo 1 (B) (iii), a partir de 2,40 g (alrededor de 5,2 mmol) de la sal monobencilamínica de ácido [(N-benciloxicarbonil-L-norleucil)amino]metilfosfónico, preparado como se ha indicado anteriormente, y utilizando ambas cosechas, se obtuvo 1,04 g del producto bruto de punto de fusión 263-266° (descomposición). La recristalización en una mezcla de 20 cc de agua y 120 cc de etanol dió 0,88 g de ácido (L-norleucilamino)-metilfosfónico de punto de fusión 272-274° (desc.);  $[\alpha]_D^{20} +63,4^\circ$ ;  $[\alpha]_{365}^{20} +231^\circ$  (c = 0,5%, H<sub>2</sub>O).

El ejemplo que sigue ilustra una preparación farmacéutica típica conteniendo los derivados peptídicos proporcionados por el presente invento:

EJEMPLO A

Puede prepararse una formulación parenteral conteniendo los ingredientes siguientes:

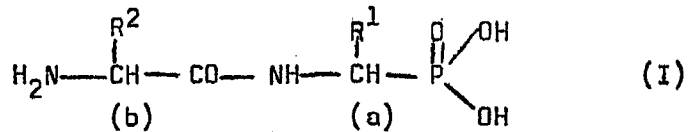
	<u>Por 1000 cc</u>
Derivado peptídico de la fórmula I	50,0 g
Clorocresol	1,0 g
Acido acético glacial	1,2 g
Solución de hidróxido sódico (0,1-N)	
cantidad suficiente hasta	pH 4,5
Agua para inyección	hasta 1000 cc



REIVINDICACIONES

Descrito el objeto del presente invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones.

5. 1.- Un procedimiento para la preparación de derivados peptídicos de la fórmula general



10 en donde

R<sup>1</sup> representa un átomo de hidrógeno o el grupo de metilo o hidroximetilo o un grupo mono-, di- o trihalometílico;

15 R<sub>2</sub> representa un grupo de alquilo inferior, hidroxi-(alquilo inferior) o guanidino-(alquilo inferior) distinto del grupo caracterizante de un alfa-aminoácido del tipo que se encuentra normalmente en las proteínas;

20 la configuración en el átomo de carbono designada como (a) es (R) cuando R<sup>1</sup> tiene un significado distinto a un átomo de hidrógeno; y

la configuración en el átomo de carbono designada como (b) es (L),

25 y sus sales aceptables en farmacia, caracterizado porque comprende condensar un compuesto de la fórmula general

*m/e*



un compuesto resultante de la fórmula I en una sal aceptable en farmacia.

5. 2. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque  $R^2$  representa un grupo de alquilo inferior o hidroxil-(alquilo inferior) distinto del grupo caracterizante de un alfa-aminoácido del tipo que se encuentra normalmente en las proteínas y  $R^{20}$  tiene cualquiera de los valores acordados para  $R^2$  anterior o representa un grupo de hidroxil-(alquilo inferior) correspondiente en forma protegida.

10. 3. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque se prepara un derivado peptídico en donde  $R^1$  representa un átomo de hidrógeno o el grupo metílico.

15. 4. Un procedimiento, de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque se prepara un derivado peptídico en donde  $R^2$  representa un grupo de alquilo inferior.

20. 5. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 4, caracterizado porque se prepara un derivado peptídico en donde  $R^2$  representa etilo, n-propilo o n-butilo.

25. 6. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque se prepara el ácido (1R)-1-[L-(alfa-aminobutiril)amino]-etilfosfónico o una sal

respectiva aceptable en farmacia.

5. 7. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque se prepara el ácido (1R)-1-(L-norleucilamino)-etilfosfónico o una sal respectiva aceptable en farmacia.

8. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque se prepara el ácido (1R)-1-(L-norvalilamino)-etilfosfónico o una sal respectiva aceptable en farmacia.

15. 9. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque se prepara el ácido (L-(alfa-aminobutirilamino)-metilfosfónico o una sal respectiva aceptable en farmacia.

15. 10. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque se prepara el ácido (L-norleucilamino)-metilfosfónico o una sal respectiva aceptable en farmacia.

20. 11. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 2, caracterizado porque se prepara el ácido (L-norvalilamino)-metilfosfónico o una sal respectiva aceptable en farmacia.

25. 12. Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque se prepara el ácido (1R)-1-(L-homoarginilamino)-etilfosfónico o una sal respectiva aceptable en farmacia.

10.433-1979

13.- Un procedimiento, de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque se prepara el ácido (L-homoarginilamino)-metilfosfónico o una sal respectiva aceptable en farmacia.

14.- Un procedimiento para la preparación de derivados peptídicos.

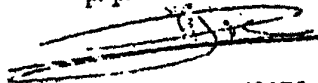
Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 33 hojas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

Madrid, a 19 de Diciembre de 1978

P. a.

JAIME ISEAMI

P. P.



Firmado: JESUS PICAZO

/mc.