



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 197 754**

⑫ Número de solicitud: 200101169

⑤① Int. Cl.⁷: C07K 1/04

C07K 1/06

C08F 210/02

C08F 212/08

C08F 222/06

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

⑫② Fecha de presentación: **22.05.2001**

⑫③ Fecha de publicación de la solicitud: **01.01.2004**

⑫④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
01.01.2004

⑦① Solicitante/s: **UNIVERSIDAD DE ALICANTE**
Ctra. S. Vicente del Raspeig, s/n Otri
03690 San Vicente del Raspeig, Alicante, ES

⑦② Inventor/es: **Chinchilla Cruz, Rafael;**
Dodsworth, David John;
Nájera Domingo, Carmen;
Soriano Mora, José María y
Yus Astiz, Miguel Ángel

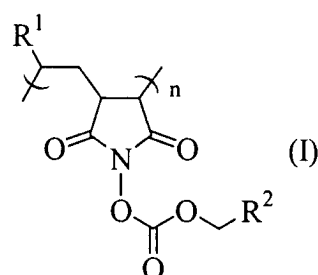
⑦④ Agente: **No consta**

⑤④ Título: **Copolímeros de olefina y N-(alcoxicarbonilo)maleimida, su obtención y empleo para proteger grupos amino.**

⑤⑦ Resumen:

Copolímeros de olefina y N-(alcoxi-carbonilo)maleimida, su obtención y empleo para proteger grupos amino.

Los copolímeros de olefina y N-(alcoxicarbonilo)maleimida contienen una estructura de tipo N-hidroxisuccinimida y un grupo 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc), benciloxycarbonilo (Cbz) u otro alcoxicarbonilo. Los grupos Fmoc, Cbz o, en general, alcoxicarbonilo, pueden ser transferidos a un grupo amino, lo que permite obtener compuestos N-protegidos y recuperar la N-hidroxisuccinimida polimérica generada tras la protección del grupo amino. Los copolímeros pueden ser de un compuesto de fórmula (I) donde R¹ es hidrógeno, un grupo atractor de electrones, un grupo dador de electrones, un grupo alquilo, un grupo arilo o un grupo alcoxi; R² puede ser un grupo 9-fluorenilo, fenilo u otro alcoxicarbonilo; y n es un número comprendido entre 1.000 y 5.000. Los copolímeros son útiles para N-proteger grupos amino.



DESCRIPCION

Copolímeros de olefina y N-(alcoxycarbonilo)maleimida, su obtención y empleo para proteger grupos amino.

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a unos copolímeros de una olefina y N-(alcoxycarbonilo)maleimida, que contienen una estructura de tipo N-hidroxisuccinimida y un grupo 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc), benciloxycarbonilo (Cbz) o, en general, alcoxycarbonilo capaz de ser transferido a un grupo amino, lo que permite obtener compuestos, por ejemplo, N-Fmoc-protegidos o N-Cbz-protegidos, recuperando la N-hidroxisuccinimida polimérica liberada tras la protección. La invención también se refiere a un procedimiento para la síntesis de dichos copolímeros y a su empleo.

15 **Antecedentes de la invención**

El grupo 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc) es enormemente popular como grupo protector de aminas primarias y secundarias, especialmente en aminoácidos para la síntesis de péptidos, dada su estabilidad hacia ácidos y su labilidad hacia bases (T. W. Green, P. G. M. Wuts *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons, New York, 1999, p. 506; P. J. Kocienski *Protecting Groups*, Thieme, Stuttgart, 1994, p. 202; E. Atherton, R. C. Sheppard *The Fluorenylmethoxycarbonyl Amino Protecting group*, en *The Peptides*, S. Uderfriend, J. Meienhofer, Eds., Academic Press, New York, 1987, Vol. 9, p. 1; L. A. Carpino, H. G. Beyerman, M. Bienert *J. Org. Chem.* 1991, 56, 2635; L. A. Carpino *Acc. Chem. Res.* 1987, 20 401). Asimismo, el grupo benciloxycarbonilo (Cbz) es otro de los grupos protectores de aminas básico en síntesis peptídica (T. W. Green, P. G. M. Wuts *Protective Groups in Organic Synthesis*, J. Wiley & Sons, New York, 1999, p. 506; P. J. Kocienski *Protecting Groups*, Thieme, Stuttgart, 1994, p. 202; *Encyclopedia of Reagents in Organic Synthesis*, L. A. Paquette, Ed., John Wiley & Sons, Chichester, 1995).

Por todo ello, se han preparado diversos reactivos con una fórmula general Fmoc-X ó Cbz-X para incorporar los grupos Fmoc o Cbz, respectivamente. Así, el cloruro de 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc-Cl) o el cloruro de benciloxycarbonilo (Cbz-Cl) han sido ampliamente utilizados; sin embargo, poseen una serie de inconvenientes, tales como su inestabilidad y su tendencia a la formación de cierta cantidad indeseada de dipéptidos, probablemente a través un intermedio con estructura de anhídrido mixto (para el caso de Fmoc-Cl ver: L. Lapatsanis, G. Milias, K. Froussios, M. Kolovos *Synthesis* 1983, 671). Asimismo, el Cbz-Cl es considerado altamente tóxico (*Encyclopedia of Reagents in Organic Synthesis*, L. A. Paquette, Ed., John Wiley & Sons, Chichester, 1995). El empleo del derivados tales como el de azida Fmoc-N₃ reduce la formación de dipéptidos (L. A. Carpino, G. H. Han *J. Org. Chem.* 1972, 37, 3404; M. Tessier, F. Albericio, E. Pedrosa, A. Grandas, R. Entja, E. Giralt, C. Granier, J. Van Rietschoten *Int. J. Pept. Protein Res.* 1983, 22, 125), si bien presenta serios problemas relacionados con el uso y almacenamiento de azidas potencialmente explosivas. Por todo ello, es preferible el uso de carbonatos más estables tales como Fmoc-pfp (pfp = perfluorofenoxi) (I. Schón, L. Kisfalady *Synthesis* 1986, 303), Fmoc-OBt (Bt = benzotriazol-1-il) (A. Paquet *Can. J. Chem.* 1982, 60, 976) o, especialmente, Fmoc-OSu (Su = succinimidil) (L. Lapatsanis, G. Milias, K. Froussios, M. Kolovos *Synthesis* 1983, 671; A. Paquet *Can. J. Chem.* 1982, 60, 976; P. B. W. Ten Kortenaar, B. G. Van Dijk, J. M. Peters, B. J. Raaben, P. J. H. M. Adams, G. I. Tesser *Int. J. Pept. Protein Res.* 1986, 27, 398). Asimismo se encuentran muchos derivados del tipo Cbz-X (S.-I. Murahashi, T. Naota, N. Nakajima *Chem. Lett.* 1987 879; E. Wünsch *Synthesis* 1986, 959; S. K. Sharma, M. J. Miller, S. M. Payne *J. Med. Chem.* 1989, 32, 357; Y. Kita, J. Haruta, H. Yasuda, K. Fukunaga, Y. Shirouchi, Y. Tamura *J. Org. Chem.* 1982, 47, 2697), como por ejemplo el Cbz-OSu (P. Henklein, H.-U. Heyne, W.-R. Halatsch, H. Niedrich *Synthesis* 1987, 166), que también proporcionan aminoácidos Cbz-protegidos con rendimientos comparables y libres de la formación de dipéptidos.

El uso de todos estos reactivos presenta el inconveniente del difícil aislamiento del aminoácido N-protegido puro cuando la reacción se realiza en pequeña escala. Asimismo, la separación del grupo saliente una vez finalizada la reacción de protección representa un problema. Por ejemplo, en el caso de los comúnmente utilizados Fmoc-OSu o Cbz-OSu existe el inconveniente de la separación de la N-hidroxisuccinimida liberada. Si bien este producto puede separarse por disolución en agua tras un procedimiento extractivo, su recuperación posterior de la fase acuosa resulta difícil, y su obtención libre de agua muy costosa. Como consecuencia de estos lavados, también se pierde el aminoácido protegido. Por tanto, resulta de alto interés el desarrollo de nuevos reactivos para la protección del grupo amino que permitan su fácil separación y reutilización, lo que implicará no solo ventajas económicas, sino también el uso de procesos menos contaminantes.

El problema técnico al que se enfrenta la presente invención consiste en proporcionar nuevos reactivos del tipo Fmoc-OSu o Cbz-OSu para la protección de grupos amino con estos grupos, pero unidos a una fase sólida que incorpore una estructura de N-hidroxisuccinimida, que posean una elevada estabilidad, produzcan elevados rendimientos y permitan una fácil recuperación de la N-hidroxisuccinimida generada como residuo unida al soporte sólido, así como del aminoácido protegido.

La solución proporcionada por la invención se basa en el desarrollo de unos copolímeros de olefina y N-(alcoxycarbonilo)maleimida, que contienen una estructura de N-hidroxisuccinimida y un grupo Fmoc, Cbz o, incluso, otros grupos alcoxycarbonilo, capaces de ser transferidos a un grupo amino. Dichos copolímeros poseen una elevada estabilidad, pudiéndose almacenar durante tiempo indefinido, y pueden ser empleados en reacciones de protección del grupo amino con estos grupos con elevados rendimientos, permitiendo la fácil recuperación de la N-hidroxisuccinimida en fase sólida.

Por tanto, un objeto de esta invención lo constituye un copolímero de una olefina y N-(alcoxycarbonilo)maleimida.

Un objeto adicional de esta invención lo constituye un procedimiento para la obtención de dicho copolímero.

Otro objeto adicional de esta invención lo constituye el empleo de dicho copolímero en la N-protección de grupos amino. El método para N-proteger un grupo amino presente en un compuesto que contiene, al menos, un grupo amino, mediante el empleo de dichos copolímeros, también constituye un objeto adicional de esta invención.

Descripción detallada de la invención

La invención proporciona un copolímero de una olefina y N-(alcoxycarbonilo)maleimida, en adelante copolímero de la invención, que comprende monómeros de olefina (A) y de N-(alcoxycarbonilo)maleimida (B) como unidades estructurales.

Tal como se utiliza en esta descripción, la olefina es una olefina de, al menos, 2 átomos de carbono, opcionalmente sustituida con un sustituyente seleccionado entre alquilo, arilo, arilalquilo, carboxilato de alquilo o arilo, ciano, nitro, halo, amino, alquilcarbonilo, alquilcarboxamido, alcoxi, arilo o arilalcoxi. En una realización particular, dicha olefina es una α -olefina seleccionada entre etileno o etileno sustituido con fenilo (estireno) o metoxi (metoxietileno).

El peso molecular promedio del copolímero de la invención puede variar dentro de un amplio intervalo, dependiendo del número de unidades de cada uno de los monómeros que constituyen el copolímero. En una realización particular, el peso molecular promedio del copolímero de la invención está comprendido entre 500.000 y 2.000.000.

La distribución de los monómeros (A) y (B) que constituyen las unidades estructurales del copolímero de la invención puede ser variable. A modo de ejemplo, la distribución de dichos monómeros puede ser de tipo alternante, es decir, -ABABABAB- (donde A y B son los monómeros que constituyen las unidades estructurales), al azar [-ABAAABBABBA-], de tipo bloque [-AAAAAABBBBBB-] o de tipo injerto. Por tanto, el copolímero de la invención puede ser, por ejemplo, un copolímero alternante, al azar, de bloques o de injerto.

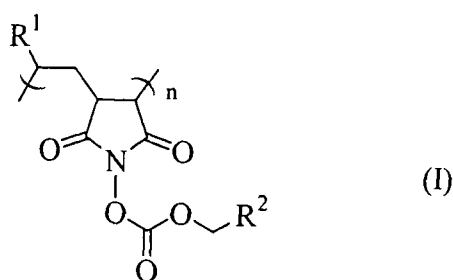
Los copolímeros de la invención pueden obtenerse mediante un procedimiento que comprende la reacción de un copolímero de una olefina y N-hidroximaleimida con un compuesto capaz de suministrar el grupo Fmoc, Cbz, o, en general, el grupo alcoxycarbonilo en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente (15-25°C) y 100°C. Dicho copolímero de olefina y N-hidroximaleimida puede obtenerse por reacción de un copolímero de una olefina y anhídrido maleico con hidroxilamina, por ejemplo, en medio acuoso, en exceso de hidroxilamina, a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente y 100°C. A su vez, el copolímero de olefina y anhídrido maleico puede obtenerse por métodos convencionales (véase, por ejemplo, R.B. Seymour, C.E. Carraher, Jr., "Polymer Chemistry", Marcel Dekker, Inc., New York, 1988).

Los copolímeros de la invención incluyen grupos 9-fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc), benciloxycarbonilo (Cbz) u otros alcoxycarbonilos capaces de ser transferidos a grupos amino, por lo que pueden ser utilizados en la N-protección de grupos amino, por ejemplo, los grupos amino presentes en los aminoácidos,

para obtener los correspondientes aminoácidos N-Fmoc-o N-Cbz-protegidos, recuperándose el grupo N-hidroxisuccinimida tras la protección del grupo amino.

Por tanto, la invención proporciona un método para la N-protección de un grupo amino que comprende el empleo de un copolímero de la invención. En particular, dicho método comprende poner en contacto un compuesto que contiene, al menos, un grupo amino con un copolímero de la invención, en un disolvente apropiado, en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente y el punto de ebullición del disolvente, en una relación equimolar o en exceso del copolímero de la invención, es decir, en una relación molar copolímero de la invención/grupo amino igual o superior a 1. El compuesto que contiene, al menos, un grupo amino puede ser cualquier compuesto que contiene uno o más grupos amino, por ejemplo, un aminoácido. Dependiendo del compuesto que contiene, al menos, un grupo amino, se elegirán el disolvente y la base.

En una realización particular, el copolímero de la invención es un compuesto de fórmula general (I)



donde

R^1 hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, carboxilato de alquiló o arilo, ciano, nitro, halo, amino, alquil-carboniloxi, alquilcarboxámido, alcoxi, arilo xi, o arilalcoxi;

R^2 es alquilo, arilo, arilalquilo, o 9-fluorenilo; y

n es un número comprendido entre 1.000 y 5.000.

Tal como se utiliza en esta descripción, el término “alquil(o)”, sólo o en combinación se refiere a un radical monovalente de cadena lineal o ramificada, derivado de un hidrocarburo saturado, de 1 a 4 átomos de carbono.

El término “aril(o)”, solo o en combinación, se refiere a un radical derivado de un hidrocarburo aromático por pérdida de un hidrógeno en un átomo de carbono del núcleo, e incluye, radicales mono-, bi-, o policíclicos aromáticos de 6 a 14 átomos de carbono opcionalmente sustituido con uno o más grupos sustituyentes seleccionados entre grupos halo, alquilo (tal como se ha definido previamente), nitro o metoxilo.

El término “arilalquil(o)”, solo o en combinación, se refiere a un grupo alquilo, tal como el definido previamente, que contiene un grupo arilo tal como el definido previamente como sustituyente.

El término “carboxilato de alquilo o arilo” se refiere a un radical de fórmula $-COOR$, donde R es un grupo alquilo o arilo tal como han sido definidos previamente.

El término “alquilcarboniloxi” se refiere a un radical de fórmula $RO(O)O-$, donde R es un grupo alquilo tal como el definido previamente.

El término “alquilcarboxamido” se refiere a un radical de fórmula $RC(O)NR'$, donde R es un grupo alquilo tal como el definido previamente, y R' es hidrógeno o un grupo alquilo o arilo tal como han sido definidos previamente.

El término “amino”, se refiere a un radical de fórmula $-NRR'$, donde R y R' , independientemente entre sí, son hidrógeno o un grupo alquilo o arilo tal como han sido definidos previamente.

El término “alcoxi”, solo o en combinación, se refiere a un radical “alquil-oxi”, donde el término alquil es el definido previamente.

El término “ariloxi”, solo o en combinación, se refiere a un radical “aril-oxi”, donde aril es el definido previamente.

El término “arilalcoxi”, solo o en combinación, se refiere a un radical “arilalquiloxi”, donde arilalquil es el definido previamente.

El término “9-fluorenilo” incluye al radical 9-fluorenilo, opcionalmente sustituido con, uno o más grupos sustituyentes seleccionados entre halo o alquilo tal como ha sido definido previamente.

El compuesto de fórmula (I) es un copolímero de la invención en el que la distribución de los monómeros de la olefina opcionalmente sustituida y de N-(alcoxycarbonilo) maleimida es alternante. En una realización particular, el copolímero de la invención es un compuesto de Fórmula (I) en el que R^1 es hidrógeno, fenilo o metoxi R^2 es un grupo 9-fluorenilo, y n está comprendido entre 1.000 y 5.000, por ejemplo, alrededor de 3.000.

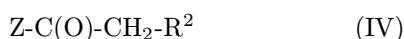
El compuesto de Fórmula (I) puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende hacer reaccionar un copolímero de olefina y N-hidroximaleimida, de fórmula (III).



donde R^1 y n tienen los significados previamente mencionados, con un compuesto capaz de suministrar los grupos Fmoc, Cbz, o alcoxycarbonilo en un medio acuoso, en presencia de una, base, a una temperatura comprendida entre 5°C y 100°C, para obtener el compuesto de fórmula (I), y, si se desea, precipitar el compuesto de fórmula (I) por adición de un disolvente orgánico y separarlo del medio de reacción.

La base puede ser una base inorgánica, por ejemplo, un hidróxido o un carbonato de un metal alcalino, por ejemplo, hidróxido o carbonato sódico o potásico.

El compuesto capaz de suministrar el grupo Fmoc, Cbz, o alcoxycarbonilo puede ser cualquier compuesto capaz de proporcionar en medio acuoso dicho grupo, por ejemplo, un compuesto de fórmula (IV)

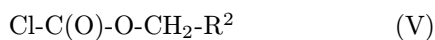


donde

Z es OSu, N_3 , OBt, imidazolilo o halógeno, por ejemplo, Cl y

R^2 es el definido previamente en relación con el compuesto de Fórmula (I).

En una realización particular, el compuesto capaz de suministrar el grupo protector es el cloruro de alcoxycarbonilo (V)



donde

R^2 es el definido previamente en relación con el compuesto de Fórmula (I).

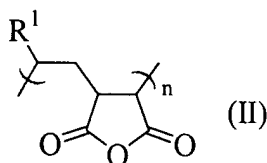
Los compuestos de fórmula (V) son comerciales o bien pueden prepararse por métodos sintéticos bien conocidos en la técnica (véase por ejemplo, L. A. Carpino, G. Y. Han, *J. Org. Chem.* 1972, 37, 3404).

La reacción. del, compuesto de fórmula (III) con el compuesto capaz de suministrar el. grupo Fmoc, Cbz o alcoxycarbonilo se realiza, preferentemente, en exceso molar del compuesto capaz de suministrar el grupo protector sobre el compuesto de fórmula (III), es decir, en una relación molar compuesto capaz de suministrar el grupo protector/compuesto de fórmula (III) mayor que 1, por ejemplo, igual o superior a 4.

La reacción del compuesto de fórmula (III) con el compuesto capaz de suministrar el grupo Fmoc, Cbz o alcoxycarbonilo se puede realizar a una temperatura comprendida entre 15°C y 100°C, por ejemplo, a 25°C, durante un periodo de tiempo comprendido entre 6 y 48 horas, por ejemplo, durante 24 horas.

El compuesto de fórmula (I), si se desea, se puede precipitar y aislar por cualquier Método convencional, por ejemplo, por adición de un disolvente orgánico en el que dicho compuesto de Fórmula (I) sea total o sustancialmente insoluble, tal como un hidrocarburo alifático o aromático, por ejemplo, pentano, hexano, benceno, tolueno, etc., y sus mezclas, por Ejemplo, tolueno/hexano, tolueno/pentano, etc. El compuesto de fórmula (I) precipitado se puede separar del medio de reacción por cualquier método convencional, por ejemplo, mediante filtración, e identificar por métodos convencionales, por ejemplo, por espectroscopía de infrarrojos.

El copolímero de olefina y N-hidroximaleimida de fórmula (III) se puede obtener haciendo reaccionar un copolímero de una olefina y anhídrido maleico de fórmula (II)



donde

R^1 y n tienen los significados previamente mencionados,

con hidroxilamina en medio acuoso, a una temperatura comprendida entre 15°C y 100°C, para obtener el compuesto de fórmula (III), y, si se desea, separarlo del medio de reacción.

La reacción del compuesto de fórmula (II) con hidroxilamina se realiza, preferentemente, en exceso molar de hidroxilamina sobre el compuesto de fórmula (II), es decir, en una relación molar hidroxilamina/compuesto de fórmula (II) mayor que 1.

La reacción del compuesto de fórmula (II) con la hidroxilamina se puede realizar a una temperatura comprendida entre 15°C y 100°C, por ejemplo, a 90°C, durante un periodo de tiempo comprendido entre 6 y 48 horas, por ejemplo, durante 24 horas.

En general, el compuesto de fórmula (III), se aísla del medio de reacción para eliminar el exceso de hidroxilamina mediante métodos convencionales, por ejemplo, mediante precipitación del compuesto de fórmula (III) y aislamiento del mismo. En una realización particular, el compuesto de fórmula (III) se precipita por adición de un disolvente orgánico en el que dicho compuesto de fórmula (III) sea total o sustancialmente insoluble, tal como un hidrocarburo alifático o aromático, por ejemplo, pentano, hexano, benceno, tolueno, etc., y sus mezclas, por ejemplo, tolueno/hexano, tolueno/pentano, etc. El compuesto de fórmula (III) precipitado se puede separar del medio de reacción por cualquier método convencional, por Ejemplo, mediante filtración.

El compuesto de fórmula (III) es soluble en agua, por lo que para la reacción con el compuesto capaz de suministrar el grupo Fmoc, Cbz o alcoxycarbonilo, dicho compuesto de fórmula (III) se disuelve previamente en agua y, a continuación, se añade la base y el compuesto capaz de suministrar el grupo protector, con el fin de obtener el compuesto de Fórmula (I). Por tanto, alternativamente, el compuesto de fórmula (I) puede obtenerse mediante un procedimiento que comprende:

- a) hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula (II) con hidroxilamina en medio acuoso, a una temperatura comprendida entre 15°C y 100°C, para obtener dicho compuesto de fórmula (III) y separarlo por precipitación tras la adición de un disolvente orgánico y filtración;

b) disolver en un medio acuoso el compuesto de fórmula (III) precipitado, y hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula (III) con un compuesto capaz de suministrar el grupo protector, en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre 5°C y 100°C, para obtener el compuesto de Fórmula (I), y

c) precipitar el compuesto de Fórmula (I) por adición de un disolvente orgánico y separarlo del medio de reacción.

Las condiciones para la realización de cada una de estas etapas son las mismas que las mencionadas previamente en relación con la realización de las etapas individuales.

El compuesto de fórmula (I) contiene grupos Fmoc, Cbz o alcóxicarbonilo capaces de ser transferidos a grupos amino, por lo que puede ser utilizado en la N-protección de grupos amino por ejemplo, los grupos amino presentes en los aminoácidos, para obtener los correspondientes aminoácidos N-protegidos, recuperándose el grupo N-hidroxisuccinimida [compuesto de fórmula (III)] tras la protección del grupo amino. El compuesto de fórmula (III) liberado tras la protección puede ser recuperado mediante filtración o centrifugación y reutilizado para la preparación de nuevo compuesto de Fórmula (I).

Por tanto, la invención proporciona un método para la N-protección de un grupo amino que comprende el empleo de un compuesto de fórmula (I). En particular, dicho método comprende poner en contacto un compuesto que contiene, al menos, un grupo amino con un compuesto de Fórmula (I), en un disolvente apropiado, en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente y el punto de ebullición del disolvente, en una relación equimolar o en exceso del compuesto de Fórmula (I), es decir, en una relación molar compuesto de Fórmula (I)/grupo amino igual o superior a 1.

El compuesto que contiene, al menos, un grupo amino puede ser cualquier compuesto que contiene uno o más grupos amino, por ejemplo, un aminoácido. Dependiendo del compuesto que contiene, al menos, un grupo amino, se elegirán el disolvente y la base. A modo ilustrativo, cuando el compuesto que contiene, al menos, un grupo amino, es un aminoácido, el disolvente puede ser agua y la base una base inorgánica, por ejemplo, un hidróxido o un carbonato de un metal alcalino, por ejemplo, hidróxido o carbonato sódico o potásico. En otros casos, el disolvente puede ser un disolvente orgánico (adecuado para el compuesto que contiene, al menos, un grupo amino en cuestión) y la base puede ser una base orgánica, tal como piridina, trietilamina, colidina, etc.

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar la invención, consistente en la obtención de nuevos reactivos poliméricos para la protección con los grupos Fmoc, Cbz o alcóxicarbonilo, sin que deban considerarse como limitativos del alcance de la misma.

Ejemplo 1

Copolímero de estireno y N-hidroximaleimida

A una suspensión de un copolímero de estireno y anhídrido maleico comercial (20 g), con un peso molecular de 550.000 aproximadamente, en agua (130 ml) se le añade una disolución de hidroxilamina acuosa al 50 % (11,2 ml, 171 mmol) y se agita a 90°C durante 24 h. Se añade HCl (c) hasta acidez, hexano (50 ml) y se agita durante 1 h. El sólido se filtra, se lava con una mezcla tolueno/hexano 3/1 (3x20 ml) y se seca a vacío, obteniéndose 22 g de copolímero de estireno y N-hidroximaleimida que se identifica mediante espectroscopía de infrarrojos (IR) presentando bandas a 3525 y 1715 cm⁻¹.

Alternativamente, el copolímero de estireno y anhídrido maleico podría obtenerse mediante copolimerización radicalaria (R.B. Seymour, C.E. Carraher, Jr., "Polymer Chemistry", Marcel Dekker, Inc., New York, 1988) y podría identificarse mediante espectroscopía de IR por presencia de bandas de C=O a 1859 y 1779 cm⁻¹.

Ejemplo 2

Copolímero de estireno y N-(9-fluorenilmetoxycarbonilo)maleimida

El copolímero de estireno y N-hidroximaleimida [compuesto de fórmula (III) en donde R¹ es fenilo], preparado como se describe en el Ejemplo 1 (1 g, equivalente a 1,5 mmol), se suspende en agua (10 ml), y se le añade carbonato de potasio (415 mg, 3 mmol). A esta mezcla se le añade una disolución de cloruro de 9-fluorenilmetoxycarbonilo (1,6 g, 6 mmol) en acetona (20 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24 h. El disolvente se elimina a vacío y al residuo se le añade una mezcla de tolueno/hexano

3/1 (20 ml) y se filtra. El sólido se lava con agua y se seca, obteniéndose 1,3 g de copolímero de estireno y N-(9-fluorenilmetoxycarbonilo)maleimida que se identifica mediante espectroscopía de IR presentando bandas de C=O a 1815, 1787 y 1736 cm^{-1} (al igual que una muestra de Fmoc-OSu comercial).

5 Ejemplo 3

Copolímero de estireno y N-(benciloxycarbonilo)maleimida

El copolímero de estireno y N-hidroximaleimida [compuesto de fórmula (III) en donde R^1 es fenilo],
 10 preparado como se describe en el Ejemplo 1 (1 g, equivalente a 1,5 mmol), se suspende en agua (10 ml), y se le añade carbonato de potasio (415 mg, 3 mmol). A esta mezcla se le añade una disolución de cloruro de benciloxycarbonilo (0,857 ml, 6 mmol) en acetona (20 ml) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 24 h. El disolvente se elimina a vacío y al residuo se le añade una mezcla de tolueno/hexano 3/1 (20 ml) y se filtra. El sólido se lava con agua y se seca, obteniéndose 0,9 g de copolímero de estireno y
 15 N-(benciloxycarbonilo)maleimida que se identifica mediante espectroscopía de IR presentando bandas de C=O a 1811, 1789 y 1731 cm^{-1} (igual que una muestra de Cbz-OSu comercial).

Ejemplo 4

20 *N-protección de grupos amino con el grupo Fmoc*

Se realizaron ensayos para evaluar la capacidad de los copolímeros preparados, por Ejemplo el derivado de Fmoc obtenido en el Ejemplo 2, para N-proteger el grupo amino de diversos aminoácidos, concretamente, alanina, glicina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, prolina, serina y treonina, con
 25 el grupo Fmoc. Para ello, se procedió de la manera que se indica a continuación. Los demás grupos protectores, como por ejemplo, el Cbz se introducirían de forma similar.

A una suspensión del copolímero preparado en el Ejemplo 2 (270 mg, equivalentes a 0,4 mmol) en acetona (20 ml) se le añade una disolución del aminoácido correspondiente (0,4 mmol) y carbonato de potasio (39 mg, 0,4 mmol) en agua (15 ml). La mezcla resultante se agita a una temperatura entre 25 y 40°C durante un tiempo comprendido entre 6 y 24 h. Los disolventes se evaporan a vacío, se añade tolueno (20 ml) y el sólido resultante se filtra. El sólido se agita con agua (20 ml) y se filtra de nuevo. El sólido que queda en el filtro es el copolímero de estireno y N-hidroximaleimida, cuya identidad se, determinó mediante espectroscopía de IR porque presentaba un espectro de IR idéntico al del compuesto
 35 obtenido en el Ejemplo 1.

La mezcla de los filtrados se acidifica con HCl y se extrae con acetato de etilo (3x20 ml). Las fases orgánicas se secan sobre sulfato de sodio y se evaporan a vacío obteniéndose los aminoácidos Fmoc-
 40 protegidos (comprobación mediante resonancia magnético nuclear (RMN) de ^1H y ^{13}C .

40

45

50

55

60

REIVINDICACIONES

1. Copolímeros de una olefina y N-(alcoxycarbonilo)maleimida, que comprende monómeros de olefina y de N-(alcoxycarbonilo)maleimida como unidades estructurales.

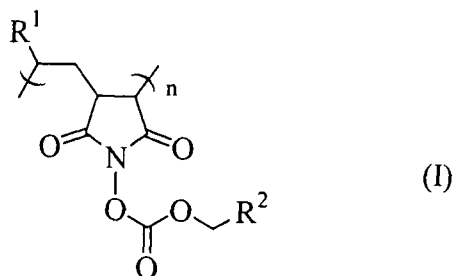
2. Copolímero según la reivindicación 1, en el que dicha olefina es una olefina de, al menos, 2 átomos de carbono, opcionalmente sustituida con un sustituyente seleccionado entre alquilo, arilo, arilalquilo, carboxilato de alquilo o arilo, ciano, nitro, halo, amino, alquilcarbonilo, alquilcarboxamido, alcoxi, arilo o arilalcoxi.

3. Copolímero según la reivindicación 2, en el que dicha olefina es etileno o etileno sustituido con fenilo o metoxi.

4. Copolímero según la reivindicación 1, en el que su peso molecular promedio está comprendido entre 500.000 y 2.000.000.

5. Copolímero según la reivindicación 1, en el que la distribución de los monómeros que constituyen las unidades estructurales es alternante, al azar, en bloques, o de tipo injerto.

6. Copolímero según la reivindicación 1, de fórmula general (I)



donde

R¹ es hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, carboxilato de alquilo o arilo, ciano, nitro, halo, amino, alquilcarbonilo, alquilcarboxamido, alcoxi, arilo, o arilalcoxi;

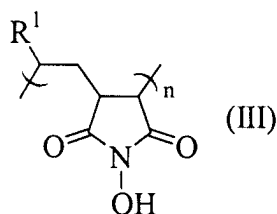
R² es alquilo, arilo, arilalquilo, ó 9-fluorenilo; y

n es un número comprendido entre 1.000 y 5.000.

7. Copolímero según la reivindicación 6, en el que R¹ es hidrógeno, fenilo o metoxi.

8. Un procedimiento para la obtención de un copolímero de una olefina y N-(alcoxycarbonilo)maleimida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende hacer reaccionar un copolímero de una olefina y N-hidroxymaleimida con un compuesto capaz de suministrar un grupo Fmoc, Cbz o alcoxycarbonilo, en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre 15°C y 100°C.

9. Procedimiento según la reivindicación 8, para la obtención de un copolímero de Fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, que comprende hacer reaccionar un copolímero de olefina y N-hidroxymaleimida, de fórmula (III)



donde

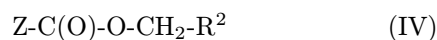
R^1 es hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, carboxilato de alquilo o arilo, ciano, nitro, halo, amino, alquilcarboniloxi, alquilcarboxamido, alcoxi, ariloxi, o arilalcoxi; y

n es un número comprendido entre 1.000 y 5.000,

con un compuesto capaz de suministrar los grupos Fmoc, Cbz o alcóxicarbonilo, en un medio acuoso, en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre 5°C y 100°C, para obtener el copolímero de Fórmula (I), y, si se desea, precipitar el copolímero de fórmula (I) por adición de un disolvente orgánico y separarlo del medio de reacción.

10. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que dicha base es una base, inorgánica.

11. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que dicho compuesto capaz de suministrar los grupos Fmoc, Cbz o alcóxicarbonilo, es un compuesto de fórmula (IV)

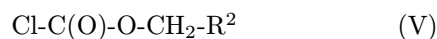


donde

Z es OSu, N₃, OBt, imidazolilo o halógeno, y

R^2 es alquilo, arilo, arilalquilo, ó 9-fluorenilo.

12. Procedimiento según la reivindicación 11, en el que dicho compuesto capaz de suministrar los grupos Fmoc, Cbz o alcóxicarbonilo, es el cloruro de alcóxicarbonilo (V)



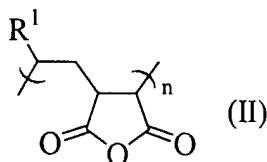
donde

R^2 Es alquilo, arilo, arilalquilo, ó 9-fluorenilo.

13. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que la relación molar compuesto capaz de suministrar los grupos Fmoc, Cbz o alcóxicarbonilo/compuesto de fórmula (III) es mayor que 1.

14. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que el compuesto de fórmula (I) se precipita por adición de un disolvente orgánico y se aísla por filtración.

15. Procedimiento según la reivindicación 9, en el que dicho copolímero de olefina y N-hidroximaleimida de fórmula (III) se obtiene haciendo reaccionar un copolímero de una olefina y anhídrido maleico de fórmula (II)



donde

R^1 es hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, carboxilato de alquilo o arilo, ciano, nitro, halo, amino, alquilcarboniloxi, alquilcarboxamido, alcoxi, ariloxi, o arilalcoxi; y

n es un número comprendido entre 1.000 y 5.000,

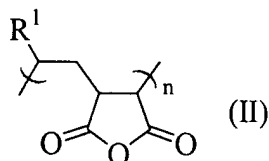
con hidroxilamina en medio acuoso, a una temperatura comprendida entre 15°C y 100°C, para obtener el compuesto de fórmula (III), y, si se desea, separarlo del medio de reacción.

16. Procedimiento según la reivindicación 15, en el que la relación molar hidroxilamina/compuesto de fórmula (II) es mayor que 1.

17. Procedimiento según la reivindicación 15, en el que el compuesto de fórmula (III), se precipita por adición de un disolvente orgánico y se aísla por filtración.

18. Un procedimiento para la obtención de un copolímero de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, que comprende

hacer reaccionar un copolímero de una olefina y anhídrido maleico de fórmula (II)

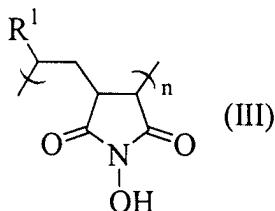


donde

R^1 es hidrógeno, alquilo, arilo, arilalquilo, carboxilato de alquilo o arilo, ciano, nitro, halo, amino, alquilcarboniloxi, alquilcarboxamido, alcoxi, ariloxi, o arilalcoxi; y

n es un número comprendido entre 1.000 y 5.000,

con hidroxilamina en medio acuoso, a una temperatura comprendida entre 15°C y 100°C, para obtener un compuesto de fórmula (III)



donde

R^1 y n tienen los significados previamente mencionados, y

separar dicho compuesto de fórmula (III) por precipitación tras la adición de un disolvente orgánico y filtración;

b) disolver en un medio acuoso el compuesto de fórmula (III) precipitado, y hacer reaccionar dicho compuesto de fórmula (III) con un compuesto capaz de suministrar los grupos Fmoc, Cbz o alcóxicarbonilo, en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre 5°C y 100°C, para obtener el copolímero de fórmula (I), y

c) precipitar el copolímero de fórmula (I) por adición de un disolvente orgánico y separarlo del medio de reacción.

19. Un método para la N-protección de un grupo amino que comprende el empleo de un copolímero de una oleína y N-(alcóxicarboniloxi)maleimida, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8.

20. Método según la reivindicación 19, que comprende poner en contacto un compuesto que contiene, al menos, un grupo amino con dicho copolímero de olefina y N-(alcóxicarboniloxi)maleimida, en un disolvente, en presencia de una base, a una temperatura comprendida entre la temperatura ambiente y el punto de ebullición del disolvente, en una relación molar copolímero/grupo amino igual o superior a 1.

21. Método según la reivindicación 20, en el que dicho compuesto que contiene, al menos, un grupo amino es un compuesto que contiene uno o más grupos amino.

22. Método según cualquiera de las reivindicaciones 20 ó 21, en el que dicho compuesto que contiene,
5 al menos, un grupo amino es un aminoácido.

23. Método según la reivindicación 19, en el que dicho copolímero de olefina y N-(alcoxycarbonilo)-maleimida de fórmula (I), es un copolímero de estireno y N-(9-fluorenilmtoxycarbonilo)-maleimida o un copolímero de estireno y N-(benciloxycarbonilo)-maleimida.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60



INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑮ Int. Cl.⁷: C07K 1/04, 1/06, C08F 210/02, 212/08, 222/06

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	K. AHN et al. "Synthesis of Polymers Having N-Hydroxymaleimide Units by Thermolysis of N-(Isopropylloxycarbonyloxy)maleimide Polymers", Bull. Korean Chem. Soc., 1995, Vol. 16, N° 5, páginas 443-449, ver compuestos P-3,P-5,P-10.	1-7
X	K. AHN et al. "Synthesis and Polymerization of t-BOC protected Maleimide Monomers: N-(t-butyloxycarbonyloxy)maleimide and N-[p-(t-butyloxycarbonyloxy)phenyl]-maleimide", Polymer, 1995, Vol. 36, N° 13, páginas 2621-2628, ver compuesto 11.	1,2,4,5
A	M. AKIYAMA et al. "Synthesis and Reactions of Functional Polymers. XLII. Preparation and Use of Polymers Having N-Hydroxysuccinimide Unit in the Chain", Journal of Polymer Science: Polymer Chemistry Edition, 1969, Vol. 7, N° 5, páginas 1299-1306, ver compuestos IIIa,IIIb; página 1302.	1-23
A	US 3488329 A (J.H. JOHNSON et al.) 06.01.1970, columna 1, líneas 45-70; columna 2, líneas 41-59; columna 4, línea 50 - columna 5, línea 43; reivindicaciones.	1-23
A	US 3578641 A (J.H. JOHNSON et al.) 11.05.1971, columna 2, líneas 5-60; columna 4, líneas 26-75.	1-23
A	M. FRIDKIN et al. "Peptide Synthesis by Means of terc-Butyloxy Carbonylamino Acid Derivatives of Poly(ethylene-co-N-hydroxy maleimide)", Biochemistry, 1972, Vol. 11, N° 3, páginas 466-471.	1-23

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe
26.11.2003

Examinador
E. Dávila Muro

Página
1/1