

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



Nº. 10-136369-00000-0000

Fecha: 2010-11-03 16:23:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 54

SOLICITUD PATENTE DE INVENCION

10-136369

21. EXPEDIENTE Nº

54. TÍTULO GRUPOS PROTECTORES DE INDOLSULFONILO PARA
PROTECCIÓN DE GRUPOS GUANIDINO Y AMINO.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL C07D 209/30

71. SOLICITANTE LONZA Ltd.

DOMICILIO Basel, Suiza

74. APODERADO DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

CC. 41654882

22. BOGOTÁ, D.C.

Recibido, Cum
05-12-2010

Compro 2 folios
20-11-2010



No. 10-136369-00000-0000

Fecha: 2010-11-03 16:23:27

Dep. 2020 DIR.NUEVASCR

Tra. 11 PATENTEI/II

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 54

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

SOLICITUD DE:



Patente de Invención



Patente de Modelo de Utilidad



Capítulo I



Capítulo II

2
SOLICITANTE
(71)

Nombre: **LONZA Ltd**

Dirección: Münchensteinerstrasse 38,
CH-4052 Basel, Suiza.

Nacionalidad o Domicilio: Basel, Suiza

Lugar de Constitución : Suiza

Teléfono:

Fax:

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número

3
REPRESENTANTE
O APODERADO
(74)

Nombre: **DILIA MARIA RODRIGUEZ
D'ALEMAN**

Dirección: Cra. 11 No. 86-53 piso 6

Teléfono: 6 181088 Fax: 6 350835

E-mail: clarkemodet@clarkemodet.com.co

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒

NIT ☐

C.E. ☐

Otro ☐

Número **██████████ P ██████████**

4
INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: **VER HOJA ANEXA**

Dirección:

Nacionalidad o domicilio:

5 **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/EP2009/003210

Fecha 05 de mayo de 2009

Publicación Internacional No. WO 2009/135645 A1

Fecha 12 de noviembre de 2009

6 **TÍTULO (54)** GRUPOS PROTECTORES DE INDOLSULFONILO PARA PROTECCIÓN DE
GRUPOS GUANIDINO Y AMINO

7 **Clasificación Internacional (51)** C07D 209/30

8 **Prioridad**

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

Europa

Estados Unidos de América

(32) Fecha

05 de mayo de 2008

10 de septiembre de 2008

(31) Número de Solicitud

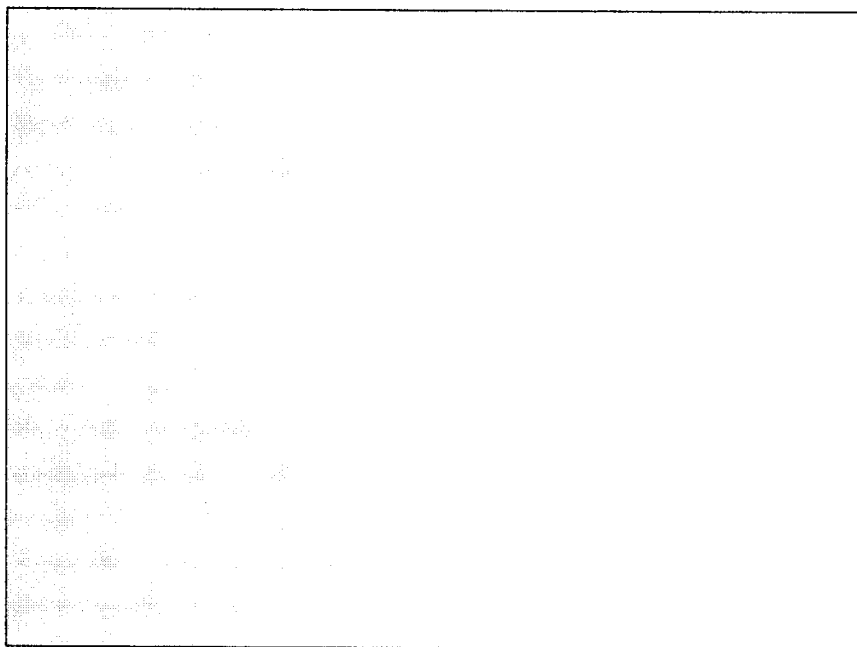
080084 18.9

61/095,709

9 **Comprobante de pago No.** 10-90,205//10-90,342 //10-90361 **Fecha** 26 de octubre de 2010

- ☐ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica
- ☐ Poderes si fuere el caso
- ☒ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. Declaraciones Regla 4.17
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA
- ☐ De ser el caso copia de contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de deposito del material biológico
- ☐ Arte final 12 X 12 .
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional
- ☐ Otros: opinión escrita *

11 FIGURA CARACTERÍSTICA



12 Solicito la concesión de la patente

NOMBRE: DILIA MARIA RODRIGUEZ D'ALEMAN

FIRMA: _____

C.C. 41.654.882 T.P. 20824

As. P-2738

ANEXOS

INVENTORES

1.)

GIRAUD, Matthieu

(Route de Lentine 42, Diolly, CH-1950 Sion, Suiza);

2.)

ALBERICIO, Fernando

(Di Putacio 259, 4a 6a, E-08007 Barcelona, España);

3.)

ISIDRO, LLOBET, Albert

(C/Frederic Soler 60, la 4a, El Prat de Llob, E-08820 Barcelona, España);

4.)

ALVAREZ DOMINGO, Mercedes

(La Marinada 28, E-08028 Sant Joan Despi, España);

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 90,205
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-136369- -00000-0000

Fecha: 2010-11-03 16:23:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 54

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	389368663	25/10/2010	96,705,000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	554,000.00
	TOTAL :	\$ 554,000.00

SON: QUINIENTOS CINCUENTA Y CUATRO MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

3
P-2738

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 200176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 10 - 90,342
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-136369-00000-0000

Fecha: 2010-11-03 16:23:27 Dep. 2020 DIR.NUELVASCR
Tra 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 54

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	389368663	25/10/2010	96,705,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS
			TOTAL : \$ 100,000.00

SON: CIEN MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

4
P-27778

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 10 - 90,361
FECHA : OCTUBRE 26 DE 2010

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 10-136369-00000-0000

Fecha: 2010-11-03 16:23:27 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eje. 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios. 54

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
CLARKE MODET	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	389368663	25/10/2010	96,705,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-08	PRORROGA DE TERMINOS	83,000.00
		*** N.CREACION PRORROGA DE TERMINOS O	83,000.00
		TOTAL :	\$ 83,000.00

SDN: OCHENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

5

GRUPOS PROTECTORES DE INDOLSULFONILO PARA PROTECCIÓN DE GRUPOS
GUANIDINO Y AMINO

RESUMEN

La invención se relaciona con indolesulfonil halogenoides que son útiles para la
5 protección de compuestos orgánicos que comprenden por lo menos un grupo funcional
guanidino y/o por lo menos un grupo amino. La invención se relaciona adicionalmente
con un proceso para su preparación y su uso como reactivos de protección. La invención
también se relaciona con el proceso para la reacción de protección y para los
compuestos protegidos de de la misma.

10

GRUPOS PROTECTORES DE INDOLSULFONILO PARA PROTECCIÓN DE GRUPOS GUANIDINO Y AMINO

La presente invención se relaciona con compuestos que son útiles para la protección de compuestos orgánicos que comprenden por lo menos un grupo funcional guanidino y/o por lo menos un grupo amino. La invención se relaciona adicionalmente con un proceso para la preparación de estos compuestos y con su uso como reactivos de protección. La invención también se relaciona con el proceso para la reacción de protección y con los compuestos protegidos de los mismos.

La protección adecuada del grupo funcional guanidino es todavía un problema no resuelto en la química debido a la dificultad para remover los grupos de protección. Esto aplica particularmente a la química de péptido como el aminoácido natural arginina, que lleva un grupo funcional guanidino, es de mayor importancia para la preparación de numerosas sustancias de fármaco. Durante la reacción de reacción acoplamiento, la protección de guanidino de la arginina es necesaria para evitar potencialmente acilación seguida por desguanidación, produciendo así formación de ornitina y δ -lactama no deseada.

Dependiendo de la estrategia de acoplamiento, los grupos de protección más comúnmente utilizados para la arginina son p-toluenosulfonilo (Tos), 2,2,5,7,8-pentametilcroman -6-sulfonilo (Pmc) y 2,2,4,6,7-pentametildihidrobenzofurano-5-sulfonilo (Pbf). Sin embargo, estos grupos de protección son demasiado estables a los ácidos, requiriendo así condiciones de remoción más duras y un mayor tiempo de remoción. Por lo tanto, los grupos de protección guanidino conocidos son propensos a formar subproductos en su remoción. Particularmente problemático es su división en péptidos con múltiples residuos de arginina o en péptidos que contienen triptofano. Carpino et al. (Tetrahedron Letters 1993, Vol. 34, No. 49, 7829-7832) compara el grupo de protección Pbf con el grupo de protección Pmc cuando se utiliza para la protección de la cadena lateral de arginina.

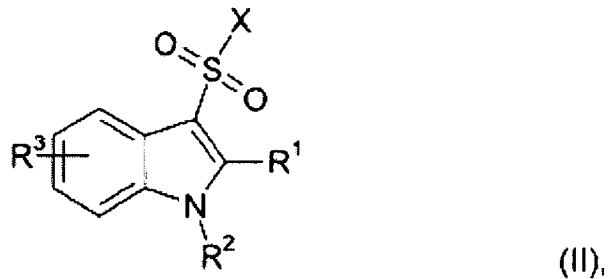
La WO 01/57045 describe sulfamas tricíclicas obtenidas a través de intermedios de benzofurano, benzotiofeno e indol.

Lowe et al. describe la síntesis de sulfonilureas heterocíclicas, que por ejemplo comprenden un grupo funcional indol (J. Heterocyclic Chem., 1996, 33, 763-766). Es un

objeto de la presente invención proporcionar un compuesto que proteja fácilmente el grupo funcional guanidino de un compuesto orgánico y que se puede remover fácilmente.

El objeto descrito anteriormente se alcanza mediante los compuestos de la reivindicación 1, que se pueden preparar mediante el proceso de la reivindicación 5 y que se utilizan de acuerdo con la reivindicación 9 en el proceso de protección de la reivindicación 12 que ofrece compuestos de la reivindicación 16.

En un aspecto, la presente invención se relaciona con un compuesto de la fórmula



en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un grupo funcional de la fórmula - (CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y X es cloro o bromo.

Aquí y en adelante, el término "alquilo C_{1-n}" se debe entender que significa cualquier grupo alquilo lineal o ramificado que contiene 1 a n átomos de carbono. Por ejemplo el término "alquilo C₁₋₆" comprende grupos tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc- butilo, pentilo, isopentilo (3-metilbutilo), neopentilo (2,2-dimetilpropilo), hexilo, isohexilo (4-metilpentilo) y similares.

De acuerdo con lo anterior, el término "alcoxi C_{1-n}" significa un grupo compuesto de un grupo alquilo a C_{1-n} como se definió anteriormente y un átomo de oxígeno ligado mediante un enlace covalente sencillo. En la misma forma, el término "alquiltio C₁₋₆" significa un grupo compuesto de un grupo alquilo C₁₋₆ como se definió anteriormente y un átomo de azufre ligado mediante un enlace covalente sencillo.

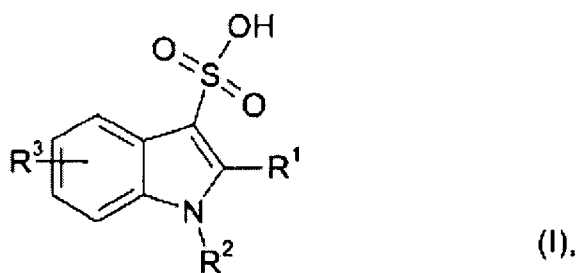
Aquí y en adelante el término "halógeno" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

Favorablemente, la presente invención se relaciona con un compuesto de la fórmula (II), en donde R¹, R², R³ y X son como se definió anteriormente con la excepción de cloruro de 1-metilindol -3-sulfonilo.

En una realización preferida, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} ; R^3 es hidrógeno o halógeno; y X es cloro o bromo.

En una realización particular, el R^1 y R^2 son metilo; R^3 es hidrógeno; y X es cloro que es cloruro de 1,2-dimetilindol -3-sulfonilo. En aras de la conveniencia, este
5 compuesto se abreviará como MIS-Cl.

En un aspecto adicional de la presente invención, el compuesto de la fórmula (II) se prepara mediante un proceso que comprenden la etapa de hacer reaccionar un compuesto de la fórmula



10 en donde R^1 , R^2 y R^3 son como se definió anteriormente, o una sal del mismo, con cloruro de oxalilo o bromuro de oxalilo.

En una realización preferida, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} , y R^3 es hidrógeno o halógeno.

En una realización más preferida, el R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

15 En el proceso para la preparación del compuesto de la fórmula (II) se puede utilizar la forma ácida y la forma de sal del compuesto de la fórmula (I) como reactivo. Se puede aplicar cualquier forma de sal del compuesto de la fórmula (I). Las sales adecuadas son por ejemplo la sal de sodio, la sal de potasio, la sal de calcio y la sal de piridinio.

20 En una realización preferida, la reacción se desarrolla con la sal de piridinio del compuesto de la fórmula (I).

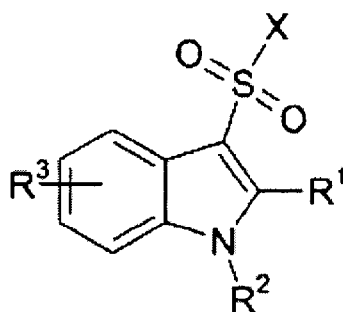
Preferiblemente, se aplica el cloruro de oxalilo para la reacción.

Para el proceso de preparación, se puede aplicar cualquier disolvente adecuado o mezclas de disolventes adecuados. Los disolventes adecuados son disolventes que no
25 reaccionan con los reactivos o con el producto y que disuelven los reactivos a un grado suficiente. Ejemplos de disolventes adecuados son diniticuerpometano, cloroformos,

tetracloruro de carbono, tetrahidrofurano y 1,4-dioxano. Preferiblemente, se utiliza diclorometano como disolvente. También se puede desarrollar la reacción sin un disolvente.

Convenientemente, la reacción se desarrolla en la presencia de N,N-dimetilformamida.

En un aspecto adicional de la presente invención, el compuesto de la fórmula



(II),

en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un grupo funcional de la fórmula - (CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y X es cloro o bromo, se utiliza para la protección de un compuesto orgánico que comprende por lo menos un grupo funcional guanidino y/o por lo menos un grupo amino.

En una realización preferida, el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que es opcionalmente protegido en la cadena lateral o protegido en un terminal libre; R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄, y R³ es hidrógeno o halógeno.

Aquí y en lo siguiente, el término "compuesto peptídico" es para ser interpretado en una amplia manera como se define aquí adelante. Por lo tanto, el término "compuesto peptídico" se debe entender que significa cualquier compuesto de una de las siguientes categorías (a) a (d):

(a) Un péptido, es decir un compuesto producido por la formación de un enlace amida entre un grupo carboxilo de un aminoácido y un grupo amino de otro. El enlace amida está típicamente formado entre C-1 de un aminoácido y N-2 de otro (enlace eupéptido), pero un compuesto con residuos ligados por otros

enlaces amida (enlaces isopéptidos) también significa que se cubre por el término “compuesto peptídico”. Los oligopéptidos que consisten de dos a quince residuos de aminoácido y los polipéptidos que consisten de dieciséis a cincuenta residuos de aminoácido son péptidos típicos de esta categoría. Los residuos de aminoácido pueden ser cualesquier aminoácidos naturales o no naturales. Un ejemplo para un péptido es H-Arg-Val-OH.

(b) Un aminoácido, que puede no ser solo un aminoácido encontrado comúnmente en proteínas (α -aminoácido natural) sino también cualquier aminoácido no natural. Ejemplos son H-Ala-OH (aminoácido natural) y homoarginina (aminoácido no natural).

(c) Un derivado de un péptido, significa un péptido en el que uno o más de los residuos de aminoácido se han modificado químicamente, por ejemplo mediante acilación, alquilación, formación de éster o formación de amida. Ejemplos son Ac-Phe-Arg-Gly-Ala-Val-OH (SEQ ID NO 5), H-Phe-Arg-Gly-Ala-Val-NH₂ (SEQ ID NO 6) y H-Arg-Gly-Ala-Gly- Gly-Lys (N^ε-tetradecanoil)-Ala-Gly-Gly-OH (SEQ ID NO 7).

(d) Un derivado de un aminoácido, significa un aminoácido que se ha modificado químicamente, por ejemplo mediante acilación, alquilación, formación de éster o formación de amida. Un ejemplo es H-Ala-OMe.

En otra realización preferida, el compuesto peptídico comprende por lo menos un grupo funcional guanidino y opcionalmente por lo menos un grupo amino, el grupo funcional guanidino es parte de un residuo de arginina, homoarginina o norarginina. Más preferiblemente, dicho grupo funcional guanidino es parte de un residuo de arginina o homoarginina. Aún más preferiblemente, grupo metileno adicional en la cadena de carbono.

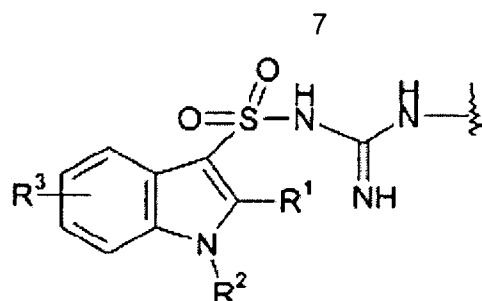
En contraste, el prefijo “nor” al nombre de un aminoácido común (como norarginina) denota remoción de un grupo metileno en la cadena de carbono.

En otra realización preferida, el compuesto peptídico comprende por lo menos un grupo amino y opcionalmente por lo menos un grupo funcional guanidino, dicho por lo menos un grupo amino(s) es el grupo amino de terminal N o parte de la cadena lateral de un residuo de aminoácido.

En otro aspecto, la presente invención se relaciona con un proceso para la protección de un compuesto orgánico, que comprende por lo menos un grupo funcional guanidino y/o un grupo amino, dicho proceso comprende la reacción de dicho compuesto con el compuesto de la fórmula

*c1ccc2c(c1)c(c(*)n2C(=O)N3C(=O)NC(=O)N3)S(=O)(=O)N4C(=O)NC(=O)N4

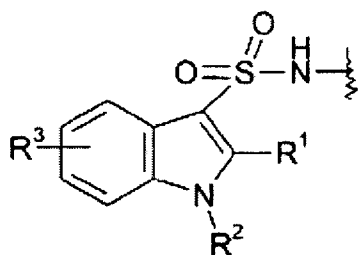
20 En una realización, m es 1, proporcionando así un compuesto, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(IV).

en donde R^1 , R^2 y R^3 son como se definió anteriormente.

En otra realización, m es 0, proporcionando así un compuesto, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(V).

5

en donde R^1 , R^2 y R^3 son como se definió anteriormente.

En una realización preferida, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} , R^3 es hidrógeno o halógeno. En una realización, m es 1 y en otra realización, m es 0.

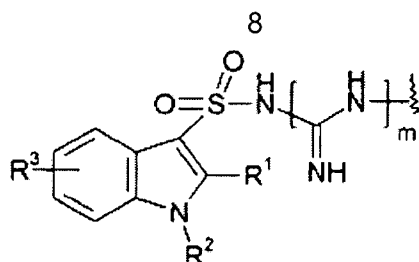
10

En una realización más preferida, R^1 y R^2 son metilo, R^3 es hidrógeno y X es cloro. En una realización, m es 1; y en otra realización, m es 0.

En otra realización preferida, el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre,

15

proporcionando así dicho compuesto peptídico, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(III),

en donde R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un grupo funcional de la fórmula $-(CH_2)_n-$, en donde n es un entero de 3 a 5; y R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0 o 1.

Preferiblemente, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno. Más preferiblemente, R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende por lo menos un grupo funcional guanidino que es parte de un residuo arginina, homoarginina o norarginina, preferiblemente que es parte de un residuo arginina o homoarginina,

proporcionando así dicho compuesto peptídico, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un grupo funcional de la fórmula $-(CH_2)_n-$, en donde n es un entero de 3 a 5; y R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 1;

preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno; y

más preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico a ser reaccionado solo comprende un grupo funcional guanidino.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico a ser reaccionado es N- α -benciloxi- carbonil-L-arginina (Z-Arg-OH).

En aún una realización más preferida, el compuesto peptídico a ser reaccionado es Z-Arg-OH; R^1 y R^2 del compuesto de la fórmula (II) son metilo, R^3 del compuesto de la fórmula (II) es hidrógeno y X del compuesto de la fórmula (II) es cloro,

proporcionando así N- α -benciloxycarbonil-N- ω -(1,2-dimetilindol -3-sulfonil) -L-arginina. En aras de la conveniencia este compuesto se abrevia como Z-Arg(MIS)-OH en lo siguiente.

En otra realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende por lo menos
5 un grupo amino, dicho por lo menos un grupo amino(s) es el grupo amino del terminal N o es parte de la cadena lateral de un residuo de aminoácido,

proporcionando así dicho compuesto peptídico, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un
10 grupo funcional de la fórmula -(CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; y R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y m es 0;

preferiblemente, en donde R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno; y

más preferiblemente, en donde R¹ y R² son metilo y R³ es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico a ser reaccionado solo
15 comprende un grupo amino que es el grupo amino del terminal N o que es parte de la cadena lateral de un residuo de aminoácido.

Aún más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico a ser reaccionado es el grupo amino del terminal N.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico a ser reaccionado es L-alanina metil éster (H-Ala-OMe).

En aún una realización más preferida, el compuesto peptídico es H-Ala-OMe; R¹ y R² del compuesto de la fórmula (II) son metilo, R³ del compuesto de la fórmula (II) es hidrógeno y X del compuesto de la fórmula (II) es cloro, proporcionando así N- α -(1,2-
25 dimetilindol -3-sulfonil)-L-alanina metil éster. En aras de la conveniencia este compuesto se abrevia como MIS-Ala-OMe en lo siguiente.

También aún más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico a se reaccionado es parte de la cadena lateral de un residuo de aminoácido. Más preferiblemente, dicho grupo amino es parte de un residuo lisina, homolisina o norlisina.

Como disolvente para el proceso de protección, se puede utilizar cualquier
30 disolvente líquido inerte que puede disolver los reactivos. Los disolventes aplicables

incluyen hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, tetracloruro de carbono y dicloroetano; éteres tales como éter de dietilo, tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano; ésteres carboxílicos y lactonas tales como acetato de etilo, acetato de metilo y valerolactona; y disolventes orgánicos que contienen heteroátomos tales como acetona, acetonitrilo, dimetilformamida y sulfóxido de dimetilo. Los disolventes se pueden utilizar solos o como mezclas. Opcionalmente, el disolvente o mezcla de disolvente puede contener agua si la solubilidad de los reactivos requiere la presencia de agua. Los disolventes preferidos son diclorometano y acetona, solos o en la presencia de agua.

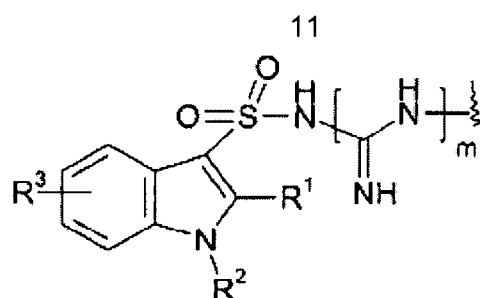
Opcionalmente, la mezcla de reacción puede contener bases inorgánicas u orgánicas. Ejemplos para bases inorgánicas son hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de litio y carbonato de sodio. Ejemplos para bases orgánicas son diisopropiletilamina, piridina y trietilamina. Las bases preferidas son hidróxido de sodio y diisopropiletilamina.

La cantidad del compuesto de la fórmula (II) varía con el volumen del reactor y puede estar en una relación molar de 0.9:1 a 4:1, preferiblemente de 1:1 a 3:1, con relación al compuesto orgánico, que comprende por lo menos un grupo funcional guanidino y/o un grupo amino. El compuesto de la fórmula (II) se puede agregar en porciones a la mezcla de reacción.

Se puede llevar a cabo el proceso de protección a temperaturas bajas o levemente elevadas. Por ejemplo, un rango de temperatura adecuado es de -10°C a 30° C, preferiblemente de 0° C a temperatura ambiente.

El tiempo de reacción depende de diferentes factores como la temperatura o la relación molar del compuesto de la fórmula (II) y el compuesto orgánico, que comprende por lo menos un grupo funcional guanidino y/o un grupo amino. Por lo tanto, la reacción se puede complementar dentro de unos pocos minutos a varias horas.

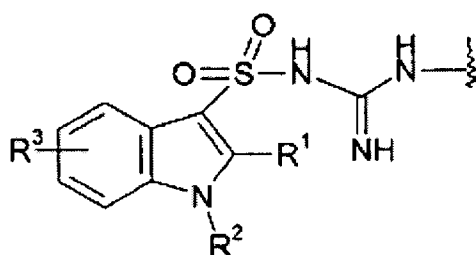
En un aspecto adicional, la presente invención se relaciona con un compuesto orgánico que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(III),

- en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un grupo funcional de la fórmula - (CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y m es 0 o 1.

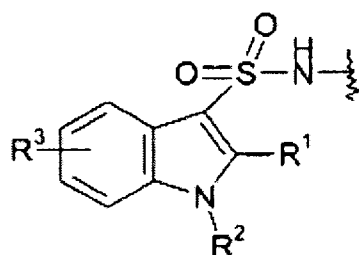
En una realización, m es 1, de tal manera que el compuesto orgánico comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(IV),

en donde R¹, R² y R³ son como se definió anteriormente.

- En otra realización, m es 0, de tal manera que el compuesto orgánico comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula

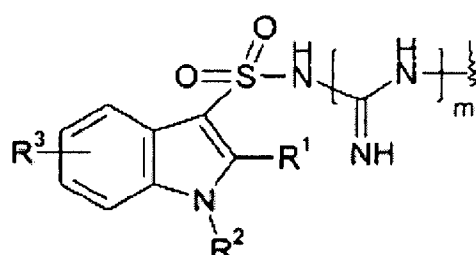


(V),

en donde R¹, R² y R³ son como se definió anteriormente.

- En una realización preferida, R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno. En una realización, m es 1 y en otra realización, m es 0.

En otra realización preferida, el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre y que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(11),

en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un grupo funcional de la fórmula -
10 (CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y m es 0 o 1, preferiblemente m es 1.

Preferiblemente, R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno. Más preferiblemente, R¹ y R² son metilo y R³ es hidrógeno.

En una realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende por lo menos un grupo funcional guanidino que es parte de un residuo arginina, homoarginina o norarginina, preferiblemente que es parte de un residuo arginina o homoarginina, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un grupo funcional de la fórmula -(CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; y R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y m es 1;

preferiblemente, en donde R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄ y R³ es hidrógeno o halógeno; y

25 más preferiblemente, en donde R¹ y R² son metilo y R³ es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende solo un grupo funcional guanidino.

Aún más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es Z-Arg(MIS)-OH.

En otra realización preferida, dicho compuesto peptídico comprende por lo menos
 5 un grupo amino, dicho por lo menos un grupo amino(s) es el grupo amino del terminal N o es parte de la cadena lateral de un residuo de aminoácido, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un grupo funcional de la fórmula $-(CH_2)_n-$, en donde n es un entero de 3 a 5; y R^3 es
 10 hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0;

preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio y R^3 es hidrógeno o halógeno; y más preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

También más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende solo un
 15 grupo amino que es el grupo amino del terminal N o que es parte de la cadena lateral de un residuo de aminoácido.

Aún más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico es el grupo amino del terminal N.

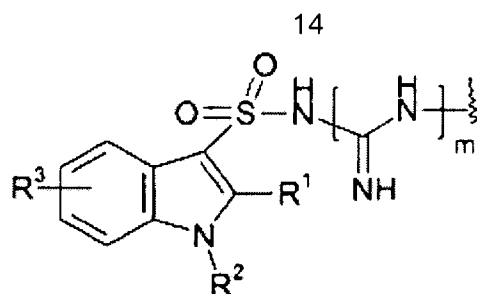
Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es MIS-Ala-OMe.

20 También aún más preferiblemente, el grupo amino de dicho compuesto peptídico es parte de la cadena lateral de un residuo de aminoácido. Más preferiblemente, dicho grupo amino es parte de un residuo lisina, homolisina o norlisina.

Un aspecto adicional de la invención es modificar y/o acoplar en la siguiente etapa(s) el compuesto orgánico obtenido de acuerdo con la presente invención.

25 Como los compuestos orgánicos obtenidos de acuerdo con la presente invención son elementos fundamentales, ellos se pueden aplicar para formar los compuestos orgánicos que son útiles como por ejemplo sustancias de fármaco.

De acuerdo con la presente invención, el compuesto orgánico que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(III),

en donde R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un grupo funcional de la fórmula $-(CH_2)_n-$, en donde n es un entero de 3 a 5; R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0 o 1,

se modifica químicamente en una siguiente etapa.

En una realización preferida, el compuesto orgánico a ser modificado en una siguiente etapa es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre y que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R^1 , R^2 , R^3 y m son como se definió anteriormente.

Preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende por lo menos un grupo funcional guanidino que es parte de un residuo arginina, homoarginina o norarginina, preferiblemente que es parte de un residuo arginina o homoarginina, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R^1 , R^2 , R^3 y m son como se definió anteriormente;

preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno; y

más preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende solo un grupo funcional guanidino.

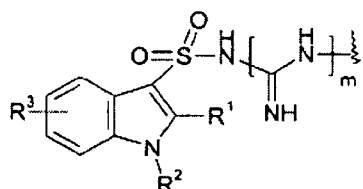
Aún más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es Z-Arg(MIS)-OH.

La modificación comprende cualquier reacción orgánica que cumple con el grupo de protección de la presente invención. Como un ejemplo, Z-Arg(MIS)-OH se puede modificar mediante la desprotección del grupo Z, formando así H-Arg(MIS)-OH.

Opcionalmente, el compuesto modificado así obtenido se modifica por lo menos una vez. Como un ejemplo, H-Arg(MIS)-OH cuando se obtienen mediante una primera modificación se puede modificar adicionalmente mediante protección de su terminal N, formando así por ejemplo Fmoc-Arg(MIS)-OH.

- 5 Se pueden llevar a cabo las etapas de desprotección y protección utilizando condiciones de reacción conocidas en la técnica de la síntesis de péptido.

También de acuerdo con la presente invención, el compuesto orgánico que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(III).

- 10 en donde R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un grupo funcional de la fórmula $-(CH_2)_n-$, en donde n es un entero de 3 a 5; R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo; y m es 0 o 1,

se acopla a un compuesto orgánico Q en una siguiente etapa.

- 15 Opcionalmente, se puede repetir dicha etapa de acoplamiento por lo menos una vez y/o se puede desarrollar por lo menos un acoplamiento adicional con un compuesto de acoplamiento adecuado. El compuesto así obtenido se puede modificar químicamente y en el caso en que dicho compuesto se una a resina, puede seguir la división de la resina.

- 20 En una realización preferida, el compuesto orgánico a ser acoplado en una siguiente etapa al compuesto orgánico Q es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre y que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R^1 , R^2 , R^3 y m son como se definió anteriormente.

- 25 Preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende por lo menos un grupo funcional guanidino que es parte de un residuo arginina, homoarginina o norarginina, preferiblemente que es parte de un residuo arginina o homoarginina, que comprende por

lo menos un grupo funcional de la fórmula (III), en donde R^1 , R^2 , R^3 y m son como se definió anteriormente; preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son independientemente $C1-\alpha$ alquilo, alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno; y

más preferiblemente, en donde R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.

- 5 Más preferiblemente, dicho compuesto peptídico comprende solo un grupo funcional guanidino.

Aún más preferiblemente, dicho compuesto peptídico es Fmoc-Arg(MIS)-OH o Z-Arg(MIS)-OH.

- El compuesto orgánico Q es preferiblemente un compuesto peptídico
10 opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre. Más preferiblemente, el compuesto orgánico Q es un compuesto peptídico que opcionalmente se protege en dicha cadena y que se une opcionalmente a resina.

- En una realización preferida, dicho compuesto peptídico es H-Val-resina o H-
15 Trp(Boc)-Ala- Gly-resina, preferiblemente la resina se origina de la resina amida Sieber (9-Fmoc-amino- xanten-3-iloxi-resina Merrifield).

- En aún una realización más preferida, el compuesto peptídico a ser acoplado es Fmoc- Arg(MIS)-OH y el compuesto peptídico al que se acopla dicho compuesto peptídico es H-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield, proporcionando así Fmoc-
20 Arg(MIS)-Val-NH- xanten-3-iloxi-resina Merrifield.

- Preferiblemente, se repite dicha reacción de acoplamiento tres veces proporcionando así Fmoc- Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 8). también preferiblemente, Fmoc-Phe-OH se acopla después de la desprotección del terminal N de dicho péptido unido a resina,
25 proporcionando así Fmoc-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)- Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 1). Más preferiblemente, el terminal N se desprotege y se acetila, proporcionando así Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)- Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 1). Más preferiblemente dicho péptido unido a resina se divide de la resina, proporcionando así Ac-Phe- Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-
30 Arg(MIS)-Val-NH₂ (SEQ ID NO 2).

En también aún una realización preferida, el compuesto peptídico a ser acoplado es Z-Arg(MIS)-OH y el compuesto peptídico al que dicho compuesto se acopla es H-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina de Merrifield, proporcionando así Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 3). Preferiblemente, dicho péptido unido a resina se divide de la resina, proporcionando así Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (SEQ ID NO 3).

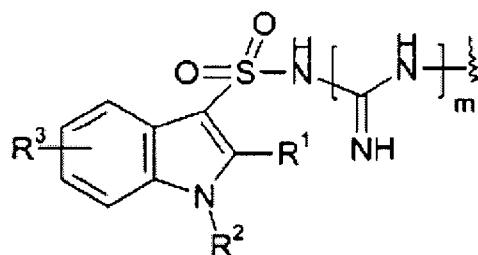
El procedimiento de acoplamiento al compuesto orgánico Q puede seguir de acuerdo con cualquier método de acoplamiento conocido por la persona experta en la técnica. En el caso en que el compuesto orgánico a ser acoplado es un compuesto peptídico, el acoplamiento se desarrolla preferiblemente en fase sólida o líquida. Más preferiblemente, opcionalmente las etapas de acoplamiento que preceden y opcionalmente las siguientes también se desarrollan en fase sólida y/o líquida.

El término "fase sólida" se debe entender que significa síntesis de péptido de fase sólida (SPPS). En el SPPS un grupo aminoácido o péptido, opcionalmente protegido, se une a una resina de soporte sólido. Luego, los aminoácidos sucesivos o grupos péptido, opcionalmente protegidos, se adhieren al péptido unido al soporte hasta que se forma el material de péptido de interés. El péptido unido a soporte luego se divide típicamente del soporte y se somete a procesamiento adicional y/o purificación. En algunos casos, la síntesis de fase sólida produce un producto de péptido maduro; en otros casos el péptido dividido del soporte, es decir un "fragmento de péptido intermedio", se utiliza en la preparación de un producto peptídico maduro, más grande.

El término "fase de solución" se debe entender que significa síntesis de péptido de fase de solución. En la síntesis de péptido de fase de solución, dos fragmentos intermedios de péptido, opcionalmente protegidos, o un fragmento intermedio de péptido y un aminoácido reactivo, ambos se protegen opcionalmente, se acoplan en un disolvente apropiado, usualmente en la presencia de reactivos adicionales que promueven la eficiencia y calidad de la reacción de acoplamiento. Los fragmentos intermedios de péptido se disponen reactivamente de tal manera que el terminal N de un fragmento se llega a acoplar al terminal C del otro fragmento, o viceversa. Adicionalmente, los grupos que protegen la cadena lateral, que están presentes durante la síntesis de fase sólida, se retienen comúnmente en los fragmentos durante el acoplamiento de la fase de solución

para asegurar la reactividad específica de los extremos terminales de los fragmentos. Estos grupos que protegen la cadena lateral no se remueven típicamente hasta que se ha formado un compuesto peptídico maduro.

Un aspecto adicional de la invención es la división de un compuesto orgánico, que
5 comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(III),

en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un grupo funcional de la fórmula - (CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi
10 C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y m es 0 o 1,

dicha división tiene lugar opcionalmente en la presencia de por lo menos un secuestrante.

En una realización preferida, el procedimiento de división se desarrolla mediante el uso de un ácido, preferiblemente mediante el uso de ácido trifluoroacético (TFA). El
15 ácido se aplica neto o como mezcla con un disolvente inerte.

Un ejemplo para un disolvente inerte adecuado es diclorometano (DCM). Preferiblemente, la relación molar de ácido y disolvente está en el rango de 1:0 y 1:2, preferiblemente de 1:0 y 1:1.

Después de división, el compuesto de sulfonilo formado se puede atrapar
20 mediante cualquier secuestrante adecuado. Ejemplos para secuestrantes son triisopropilsilano (TIS), agua, sulfuro de dimetilo, alcoxbencenos C₁₋₄ tales como 1,3,5-trimetoxibenceno (TMB) y alcoxi C₁₋₄- fenoles tales como 3,4-dimetoxifenol y 3,5-dimetoxifenol. Se puede utilizar el secuestrante solo o como una mezcla tal como agua/TIS.

Preferiblemente, los alcoxibencenos C_{1-4} y alcoxifenoles C_{1-4} se utilizan como secuestrantes ya que ellos son nucleófilos menos polares comparados con por ejemplo agua. Como una consecuencia, los aductos así obtenidos son más fáciles de separar del compuesto objetivo en el siguiente procedimiento de trabajo.

- 5 En una realización preferida, dicho compuesto orgánico a ser dividido es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre. Preferiblemente, R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno, más preferiblemente, R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.
- 10 En una realización más preferida, dicho compuesto peptídico a ser dividido es Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 1), proporcionando así Ac-Phe-Arg-Arg-Arg-Arg-Val-NH₂ (SEQ ID NO 2). Preferiblemente, se aplica TFA/DCM/TIS/agua como solución de división, más preferiblemente en una relación molar de 50:45:2.5:2.5. También preferiblemente, se
- 15 aplica TFA/DCM/3,4-dimetoxifenol como solución de división, más preferiblemente en una relación molar de 50:40:10. También preferiblemente, se aplica TFA/DCM/3,5-dimetoxifenol como solución de división, más preferiblemente en una relación molar de 50:40:10. También preferiblemente, se aplica TFA/DCM/TMB como solución de división, más preferiblemente en una relación molar de 50:40:10.
- 20 En una realización también más preferida, dicho compuesto peptídico a ser dividido es Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 3), proporcionando así Z-Arg-Trp-Ala-Gly-NH₂ (SEQ ID NO 4). Preferiblemente, se aplica TFA/DCM/TMB como solución de división, más preferiblemente en una relación molar de 50:40:10.
- 25 En una realización también más preferida, dicho compuesto peptídico a ser dividido es MIS-Ala-OMe, proporcionando así H-Ala-OMe. Preferiblemente, se aplica TFA/sulfuro de dimetilo como solución de división, más preferiblemente en una relación molar de 90:10.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente esta invención pero no se destinan a limitar en ninguna forma. Los Ejemplos 1 a 8 se refieren a procedimientos de preparación y los Ejemplos 9 a 20 se refieren a ensayos de remoción.

Si no se indica de otra forma, el L-enantiómero del residuo de aminoácido se
5 utiliza y todos los reactivos se obtienen comercialmente.

Abreviaturas:

Boc = terc- butoxycarbonilo

DIC = diisopropilcarbodiimida

DIPEA = diisopropiletilamina

10 ESMS = espectrometría de masa por electrorrociado

Fmoc = fluoren-9-imetoxicarbonilo

HOAt = N-hidroxi-7-azabenzotriazol

HOBt = N-hidroxibenzotriazol

HRMS (CI) = espectrometría de masa de alta resolución (ionización química)

15 MALDI-TOF = tiempo de vuelo y desorción/ionización de láser asistido por matriz

MIS = 1,2-dimetilindol-3-sulfonilo

PyBOP = hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tripirrolidinofosfonio

TFA = ácido trifluoroacético

TIS = triisopropilsilano

20 TMB = 1,3,5 -trimetoxibenceno

Z-OSu = N-(benciloxycarboniloxi)succinimida

Ejemplo 1: Preparación de 1,2-dimetilindol -3-sulfonato de piridinio

Se disuelven 1,2-Dimetilindol (19.7 g, 135.9 mmol) y complejo de piridina trióxido de azufre (20.4 g, 128.3 mmol) en piridina (100 mL) bajo atmósfera de argón. La mezcla
25 de reacción se somete a reflujo durante 40 horas y luego se enfría a temperatura ambiente. Después de adición de agua (400 mL), la solución resultante se lava cuatro veces con éter de dietilo (cada una 250 mL). La fase acuosa se evapora hasta secado y se seca en el desecador de vacío para hacer 1,2-dimetilindol -3-sulfonato de piridinio como un aceite rojo (37.6 g, 96% de rendimiento).

30 ^1H RMN(400 MHz, D_2O): δ = 8.44 (d, 2H, J = 5.8 Hz), 8.31 (m, 1 H), 7.75 (m, 2H), 7.67 (d, 1 H, J = 7.7 Hz), 7.14 (d, 1 H, J = 7.4 Hz), 7.05 (m, 2H), 3.38 (s, 3H), 2.41 (s, 3H).

^{13}C RMN (100 MHz, D_2O): δ = 147.0, 140.9, 139.2, 135.6, 127.3, 124.1, 122.0, 121.0, 119.2, 112.8, 109.9, 29.2, 10.4.

HRMS (CI): m/z calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}_3\text{S}$ $[\text{M} - \text{H}]^+$ 224.0386, encontrado 224.0388.

5 Ejemplo 2: Preparación de cloruro de 1,2-dimetilindol -3-sulfonilo (MIS-Cl)

Se suspende 1,2-dimetilindol -3-sulfonato de piridinio del Ejemplo 1 (16.4 g, 53.7 mmol) en diclorometano seco (120 mL) bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se enfría en un baño de hielo y se agrega lentamente cloruro de oxalilo (14 mL, 161 mmol). Luego, se agrega muy lentamente N,N- dimetilformamida (0.5 mL) bajo agitación. La mezcla de
10 reacción se agita durante 30 minutos adicionales en el baño de hielo y luego a temperatura ambiente. Después de 6 horas, la solución se enfría en un baño de hielo. Se agregan cloruro de oxalilo extra (4 mL, 46 mmol) y N,N- dimetilformamida (0.4 mL) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante unas 15 horas adicionales. Después de adición de cloruro de oxalilo (2 mL, 23 mmol) y agitación adicional durante 4
15 horas, se completa la reacción (se mide mediante HPLC; antes de medición, tratamiento de una pequeña alícuota con metanol durante 20 minutos).

La mezcla de reacción se evapora hasta secado a temperatura ambiente. Se agrega N,N- dimetil- formamida (200 mL), seguida por agua (100 mL). La mezcla se agita durante 5 minutos para remover el cloruro de oxalilo. Luego, las fases se separan y la
20 fase orgánica se lava tres veces con agua (cada 100 mL). La fase orgánica se seca sobre sulfato de magnesio anhidro y se evapora hasta secado proporcionando cloruro de 1,2-dimetilindol -3-sulfonilo (MIS-Cl) como sólido púrpura (10.2 g, 78% de rendimiento).

^1H RMN(400 MHz, DMSO): δ = 7.82 (d, 1 H, J = 7.8 Hz), 7.36 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.08 (m, 2H), 7.00 (m, 2H), 3.63 (s, 3H), 2.56 (s, 3H).

25 ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO): δ = 137.2, 135.9, 125.5, 121.4, 120.8, 120.1, 109.7, 30.0, 11.3.

HRMS (CI): m/z calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{NO}_2\text{S}$ $[\text{M} - \text{Cl}]^+$ 208.0426, encontrado 208.0427.

Ejemplo 3: Preparación de Z-Arg(MIS)-OH

30 Se disuelve Z-Arg-OH (2 g, 6.5 mmol) en acetona (65 mL) y solución de hidróxido de sodio acuosa 3 N (18 mL, 54 mmol). La reacción se enfría en un baño de hielo y se

- agrega MIS-Cl del Ejemplo 2 (1.59 g, 6.5 mmol), disuelto en acetona (50 mL), durante 10 minutos. La mezcla de reacción se agita durante 1 hora a 0° C. Luego, se agrega MIS-Cl adicional (0.95 g, 3.9 mmol) en acetona (20 mL), seguido por agitación durante 90 minutos a 0° C. Finalmente, se agrega una última porción de MIS-Cl (0.95 g, 3.9 mmol)
- 5 en acetona (15 mL). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos adicionales a 0° C y 3 horas adicionales a temperatura ambiente, hasta que no se detecta MIS-Cl mediante TLC (hexano: acetato de etilo 1:1). El pH de la reacción se neutraliza con 10% de ácido cítrico acuoso. Después de evaporación de la acetona in vacuo, se agrega agua (100 mL) y el pH se acidifica a pH 3 con 10% de ácido cítrico acuoso. Luego, la solución
- 10 se extrae tres veces con acetato de etilo (cada 100 mL). Las fases orgánicas se colocan juntas, se lavan tres veces con agua (cada 75 mL), se secan sobre sulfato de magnesio y finalmente se evaporan hasta secado. El crudo obtenido se purifica dos veces mediante cromatografía de columna (diclorometano, metanol, ácido acético). Las fracciones puras se combinan y el disolvente se remueve in vacuo produciendo un aceite. Para
- 15 precipitación, la cantidad mínima de una mezcla de acetato de etilo, diclorometano y metanol se agrega seguida por adición de hexano hasta que no se observa precipitación adicional. El disolvente se decanta y el sólido se lava cuatro veces con una mezcla de diclorometano y hexano y finalmente se seca sobre sulfato de magnesio produciendo 18% (0.61 g) de Z-Arg(MIS)-OH.
- 20 ^1H RMN(400 MHz, DMSO): δ = 7.85 (d, 1 H, J = 7.6 Hz), 7.52 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.43 (d, 1 H, J = 8.0 Hz), 7.30 (m, 5H), 7.10 (m, 2H), 5.01 (s, 2H), 3.87 (m, 1 H), 3.66 (s, 3H), 3.0 (m, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.64 (m, 1 H), 1.49 (m, 1 H), 1.41 (m, 2H).
- ^{13}C RMN (100 MHz, DMSO): δ = 174.4, 157.0, 156.8, 139.4, 137.7, 135.9, 129.0, 128.5, 128.4, 125.2, 122.1, 121.1, 120.1, 110.4, 66.1, 54.3, 40.0, 30.2, 28.9, 26.4, 11.4.
- 25 HRMS (CI): m/z calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 516.1911, encontrado 516.1911.

Ejemplo 4: Preparación de Fmoc-Arg(MIS)-OH

1. Preparación de H-Arg(MIS)-OH

- Una mezcla de Z-Arg(MIS)-OH como se obtiene del Ejemplo 3 (486 mg, 0.94
- 30 mmol) y 10% Pd/C (110 mg) en metanol (60 mL) se hidrogena durante la noche a presión atmosférica. Cuando la reacción está aún incompleta (se mide mediante TLC;

diclorometano: ácido metanoacético, 90:9:1), se agrega 10% de Pd/C (100 mg) y la reacción se hidrogena durante 24 horas adicionales hasta que se completa (se mide mediante TLC).

La mezcla de reacción se filtra sobre celita y se evapora hasta secado
5 produciendo 98% (352 mg) de H-Arg(MIS)-OH.

^1H RMN(400 MHz, DMSO): δ = 7.83 (d, 1 H, J = 7.6 Hz), 7.47 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 7.42 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 7.11 (m, 2H), 3.65 (s, 3H), 3.17 (m, 1 H), 3.00 (m, 2H), 2.60 (s, 3H), 1.65 (m, 1 H), 1.54 (m, 1 H), 1.42 (m, 2H).

2. Preparación de Fmoc-Arg(MIS)-OH

10 Se disuelve Fmoc-Cl (84 mg, 0.32 mmol) en 1,4-dioxano (0.5 mL). Se agrega azida de sodio (25 mg, 0.39 mmol) en agua (0.4 mL) y la emulsión resultante se agita durante 2 horas a temperatura ambiente. Luego, se agrega lentamente la emulsión a una solución de H-Arg(MIS)-OH como se obtiene en la etapa previa (136 mg, 0.36 mmol) en una mezcla 1:1 de agua y dioxano a pH 9, que se controla mediante adición de 10% de
15 carbonato de sodio acuoso. La mezcla de reacción se agita mientras que el pH se mantiene a 9. Una vez el pH se estabiliza, la mezcla se agita durante la noche. Luego, se agrega agua (30 mL) y la mezcla se lava tres veces con terc- butil metil éter (cada 20 mL). La fase acuosa se acidifica con HCl 1 N a un pH de 2 a 3 y luego se extrae rápidamente tres veces con acetato de etilo (30 mL). Las fases orgánicas se combinan y
20 se secan sobre sulfato de magnesio. Después de la evaporación hasta secado, se obtiene un aceite (115 mg), que se disuelve en un mínimo de acetona. Luego, se agrega carbonato de sodio acuoso (20 mL) a pH 9 y la solución acuosa se lava tres veces con terc- butil metil éter (cada 30 mL). La solución acuosa así obtenida se acidifica con HCl 1 N a un pH de 2 a 3, luego se extrae tres veces con acetato de etilo (cada 20 mL), se seca
25 sobre sulfato de magnesio y finalmente se evapora hasta secado produciendo 34.3% (67.4 mg) de Fmoc-Arg(MIS)-OH.

^1H RMN(400 MHz, DMSO): δ = 7.86 (m, 3H), 7.70 (d, 2H, J = 7.4 Hz), 7.59 (d, 1 H, J = 7.9 Hz), 7.42 (d, 1 H, J = 8.1 Hz), 7.39 (m, 2H), 7.30 (m, 2H), 7.10 (m, 2H), 4.27 (m, 2H), 4.20 (m, 1 H), 3.86 (m, 1 H), 3.66 (s, 3H), 3.01 (m, 2H), 2.61 (s, 3H), 1.65 (m, 1 H),
30 1.52 (m, 1 H), 1.38 (m, 2H).

^{13}C RMN (100 MHz, DMSO): δ = 174.4, 157.0, 156.8, 144.5, 141.4, 139.4, 135.9, 128.3, 127.8, 126.0, 125.2, 122.1, 121.1, 120.8, 120.1, 110.4, 66.3, 55.6, 47.3, 40.0, 30.2, 28.8, 26.5, 11.4.

HRMS (CI): m/z calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{34}\text{N}_5\text{O}_6\text{S}$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ 604.2224, encontrado
5 604.2222.

Ejemplo 5: Preparación de AC-Phe-Arg(MiS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH₂ (SEQ ID NO 2)

La resina amida de Sieber (25 mg, 0.42 mmol/g, 9-Fmoc-aminoxanten-3-iloxi-resina de Merrifield) se coloca en una jeringa de 2 mL de polipropileno provista con un
10 disco de filtro de polietileno. La resina se hincha con diclorometano. Posteriormente, los lavados con diclorometano y N,N- dimetilformamida se llevan a cabo y el grupo Fmoc se remueve mediante tratamiento con una mezcla 2:8 de piperidina y N,N- dimetilformamida (una vez durante 1 minuto, y dos veces durante 10 minutos). Se acopla Fmoc-Val-OH (14.3 mg, 42.1 μmol) utilizando HOBt (5.7 mg, 42.1 μmol) y DIC (6.7 μL , 42.1 μmol) en
15 N,N- dimetilformamida durante 1.5 horas. El grupo Fmoc se remueve en la forma usual, y Fmoc-Arg(MIS)-OH como se obtiene del Ejemplo 4 (15.8 mg, 26.3 μmol) se acopla utilizando PyBOP (13.7 mg, 26.3 μmol), HOAt (3.6 mg, 26.3 μmol) y DIPEA (13.4 μL , 78.9 μmol) en N,N- dimetilformamida durante 90 minutos. La resina se acetila mediante tratamiento con anhídrido acético (50 eq) y DIPEA (50 eq) en DMF durante 25 min con el
20 fin de hacer el taponamiento de las aminas no reactivas, el grupo Fmoc se remueve y el mismo procedimiento se repite tres o más veces que incluyen la acetilación de la resina antes de remoción de Fmoc. Después de la última remoción Fmoc, el Fmoc-Phe-OH (13.6 mg, 35 μmol) se acopla utilizando PyBOP (18.3 mg, 35 μmol), HOAt (4.8 mg, 35 μmol) y DIPEA (17.9 μL , 105.2 μmol) en N,N- dimetilformamida durante 90 min. El grupo
25 Fmoc se remueve, y el grupo amino libre resultante se acetila en la misma forma como se describió anteriormente. El péptido unido a resina Ac-Phe-Arg(MIS)- Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield, protegido así obtenido se lava con N,N- dimetilformamida, diclorometano y éter de dietilo, se seca en vacío y luego se divide en cinco alícuotas.

Una alícuota se utiliza para la preparación del compuesto objetivo de este ejemplo y se utilizan las otras alícuotas como material de partida para los ensayos de remoción de ensayos por ejemplo, el Ejemplo 9.

Así, una alícuota se hincha con diclorometano y se trata con 1.5 mL de una
5 mezcla de TFA, diclorometano, TIS y agua (2:93:2.5:2.5) durante 20 minutos con el fin de dividir el péptido protegido de la resina. La resina se filtra y la solución recolectada se diluye con diclorometano y se neutraliza al agregar DIPEA (80 µL, 1.2 eq por eq de TFA). El disolvente se remueve in vacuo. Después de adición de agua y acetonitrilo, la solución se liofiliza obteniendo Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)- Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH (SEQ ID
10 NO 2).

El producto se caracteriza por LC-MS y HRMS (CI): m/z calculado para $C_{80}H_{107}N_{23}O_{15}S_4$ [M + Na]⁺ 1780.7092, encontrado 1780.7152.

Ejemplo 6: Preparación de Z-Arg(MiS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (SEQ ID NO 4)

Se coloca resina amida de Sieber (70 mg, 0.40 mmol/g) en una jeringa de 2 mL de
15 polipropileno provista con un disco de filtro de polietileno. La resina se hincha con diclorometano, se llevan a cabo lavados con diclorometano y N,N- dimetilformamida y se remueve el grupo Fmoc. Se acoplan secuencialmente Fmoc-Gly-OH (33.3 mg, 112 µmol), Fmoc-Ala-OH (34.9 mg, 112 µmol) y Fmoc-Trp(Boc)-OH (59.0 mg, 112 µmol) utilizando PyBOP (58.3 mg, 112 µmol) HOAt (15.2 mg, 112 µmol) y DIPEA (57.4 µL, 336 µmol) en
20 N,N- dimetilformamida durante 1.5 horas. La resina se divide en dos partes iguales. Una parte se utiliza para la preparación del compuesto objetivo de este ejemplo y la otra parte para la preparación de Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (ver Ejemplo 8.2).

Así, se acopla Z-Arg(MIS)-OH (28.9 mg, 56 µmol) con una parte de resina utilizando PyBOP (29.2 mg, 56 µmol), HOAt (7.6 mg, 56 µmol) y DIPEA (28.7 µL, 168
25 µmol) en N,N- dimetilformamida durante 1.5 horas. El péptido unido a resina Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield, protegido así obtenido se lava con N,N- dimetilformamida, diclorometano y éter de dietilo, se seca en vacío y luego se divide en alícuotas de 4 mg. Una alícuota se utiliza para la preparación del compuesto objetivo de este ejemplo y se utilizan las otras alícuotas como material de partida para los
30 ensayos de remoción de por ejemplo el Ejemplo 19. Así, una alícuota se hincha con diclorometano y se trata con 1.5 mL de una mezcla de TFA, diclorometano, TIS y agua

(2:93:2.5:2.5) durante 20 minutos con el fin de dividir el péptido protegido de la resina. La resina se filtra y la solución recolectada se diluye con diclorometano y se neutraliza al agregar DIPEA (80 μ L, 1.2 eq por eq of TFA). El disolvente se remueve in vacuo. Después de adición de agua y acetonitrilo, la solución se liofiliza obteniendo Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ con 95% de pureza (mediante HPLC). El producto obtenido se caracteriza por LC-MS.

Ejemplo 7: Preparación de MIS-Ala-OMe H-Ala-OMe (95 mg, 0.68 mmol, 1 eq) se disuelve en diclorometano seco y se agrega DIPEA (3 eq). Se agrega una solución de MIS-Cl (200 mg, 1.2 eq), como se obtiene del Ejemplo 2, en diclorometano seco, y la mezcla de reacción se agita durante 1.5 horas a temperatura ambiente. El trabajo en la forma usual produce 85.4 mg (40%) de MIS-Ala-OMe.

Ejemplo 8: Preparación de los compuestos de comparación protegidos Pbf

8.1 Preparación de Ac-Phe-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Val-NH₂ (SEQ ID NO 2)

El mismo procedimiento como para la preparación de Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH₂ se aplica (ver Ejemplo 5) excepto para reemplazar Fmoc-Arg(MIS)-OH by Fmoc-Arg(Pbf)-OH (17.1 mg, 26.3 μ mol). El producto obtenido se caracteriza por LC-MS y HRMS (CI): m/z calculado para C₉₂H₁₃₆N₁₉O₁₉S₄ [M + H]⁺ 1938.9137, encontrado 1938.9202.

8.2 Preparación de Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ (SEQ ID NO 4) Fmoc-Arg(Pbf)-OH (36.3 mg, 56 μ mol) se acopla con la otra parte de resina del Ejemplo 6 utilizando PyBOP (29.2 mg, 56 μ mol), HOAt (7.6 mg, 56 μ mol) y DIPEA (28.7 μ L, 168 μ mol) en N,N- dimetilformamida durante 1.5 horas. El grupo Fmoc se remueve y se protege la amina libre se protege con el grupo Z mediante tratamiento con Z-OSu (14.0 mg, 56 μ mol) y DIPEA (35.9 μ L, 210 μ mol). El péptido unido a resina Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield, protegido así obtenido se lava con N,N- dimetilformamida, diclorometano y éter de dietilo, se seca en vacío, y luego se divide en alícuotas de 4 mg.

Una alícuota se utiliza para la preparación del compuesto objetivo de este ejemplo y las otras alícuotas se utilizan como material de partida para el ensayo de remoción de por ejemplo, el Ejemplo 20.

Así, se divide una alícuota en la misma forma como se describe en el Ejemplo 5. Se obtiene Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH₂ con 96% de pureza (mediante HPLC). El producto se caracteriza por LC-MS.

8.3 Preparación de Pbf-Ala-OMe

- 5 Se desarrolla la preparación análoga al Ejemplo 7 excepto para Pbf-Cl (1.2 eq) en lugar de MIS-Cl. Rendimiento: 209 mg (82%) de Pbf-Ala-OMe.

Ejemplos 9 a 12: Ensayos de remoción de MIS versus Pbf protegidos, péptido unido a resinas

Procedimiento General

- 10 El péptido unido a resina, se protege (3 mg) se trata con solución de división (50 µL). Después del tiempo de división, la solución se vierte en agua (4 mL). Luego, se evaporan TFA y diclorometano. La solución acuosa resultante se lava seis veces con diclorometano (cada 1 mL) y se liofiliza. Se analiza el sólido resultante mediante HPLC (λ = 220 nm) y ESMS o MALDI-TOF.

- 15 Tabla 1: los Ejemplos 9 a 12 con solución de división TFA/DCM/TIS/agua (50:45:2.5:2.5) (agua y TIS como secuestrantes)

Ejemplo	Péptido unido a resina, protegido	Tiempo de división	Ac-Phe-Arg-Arg-Arg-Arg-Val-NH ₂ (SEQ ID NO 2) 100%
9	a	30 min	100%
10	a	60 min	100%
11	b	30 min	4%
12	b	60 min	38%

a= Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi- resina Merrifield (SEQ ID NO 1) como se obtiene del Ejemplo 5.

- 20 b= Ac-Phe-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Arg(Pbf)-Val-NH-xanten-3-iloxi- resina Merrifield (SEQ ID NO 1) como se obtiene del Ejemplo 8.1 (ejemplo de comparación).

DCM= Diclorometano.

Ejemplos 13 a 15: Los ensayos de remoción de péptidos unidos a resinas, MIS protegidos, con secuestrantes diferentes

Se sigue el procedimiento general como se describe en los Ejemplos 9 a 12. Se utiliza como péptido unido a resina Ac-Phe-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Arg(MIS)-Val-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield, protegido (SEQ ID NO 1), como se obtiene del Ejemplo 5. El tiempo de división es de 60 minutos. Se utiliza una mezcla de TFA, 5 diclorometano y secuestrante (50:40:10) como solución de división.

Los secuestrantes probados son 3,4-dimetoxifenol (Ejemplo 13), 1,3,5-trimetoxibenceno (TMB) (Ejemplo 14) y 3,5-dimetoxifenol (Ejemplo 15).

Como un resultado, se reduce la cantidad de MIS-OH por más de 10 veces comparado con el Ejemplo 9, en el que el agua (2.5%) y TIS (2.5%) se utilizan como 10 secuestrantes. En el caso de Tmb, aún se observa una reducción de más de 40 veces.

Ejemplos 16 y 17: Ensayos de remoción de MIS versus péptidos que contienen Trp, unidos a resina, protegidos Pbf

Se sigue el procedimiento general como se describe en los Ejemplos 9 a 12. Los 15 crudos resultantes se caracterizan mediante LC-MS y se analiza su pureza mediante HPLC ($\lambda = 220 \text{ nm}$).

La pureza del crudo resultante es mayor para el material de partida protegido MIS comparado con el material protegido de Pbf. Para ambos péptidos c y d protegidos, no se observa alquilación Trp deseada ni sulfonación en el producto formado.

Tabla 2: Ejemplos 16 y 17; con solución de división TFA/DCM/TMB (50:40:10) 20 (TMB como secuestrante)

Ejemplo	Péptido unido a resina, protegido	Tiempo de división	Z-Arg-Trp-Ala-Gly-NH ₂ (SEQ ID NO 4)
17	c	60 min	83.4%*
17	d	60 min	63.4%*

c= Z-Arg(MIS)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 3) como se obtiene del Ejemplo 6.

d= Z-Arg(Pbf)-Trp(Boc)-Ala-Gly-NH-xanten-3-iloxi-resina Merrifield (SEQ ID NO 3) como se obtiene del Ejemplo 8.2 (ejemplo de comparación).

25 DCM = Diclorometano - TMB = 1,3,5-trimetoxibenceno - * Z-Arg(MIS)-Trp- Ala-Gly-NH₂ (SEQ ID NO 4) no se detecta en el crudo resultante (mediante LC-MS) - *20.4%

de Z-Arg(Pbf)-Trp-Ala-Gly-NH₂ (SEQ ID NO 4) se detecta en el crudo resultante (mediante HPLC).

Ejemplos 18 a 20: Ensayos de remoción de MIS versus Pbf como grupos de protección N^o-amino

5 Los aminoácidos protegidos se tratan con la solución de división a temperatura ambiente y la desprotección es seguida por TLC.

La remoción MIS es ligeramente más rápida, que presenta una prueba Kaiser positiva (que indica la presencia de aminos libres) después de 5 min, mientras que para el caso de Pbf la prueba Kaiser positiva está en el siguiente control (10 min).

10 Tabla 3: Ejemplos 18 a 20; con solución de división TFA/sulfuro de dimetilo (90:10) (sulfuro de dimetilo como secuestrante)

Ejemplo	Péptido protegido	Tiempo de división	H-Ala-OMeC
18	e	5 min	detectado
19	f	5 min	no detectado
20	f	10 min	detectado

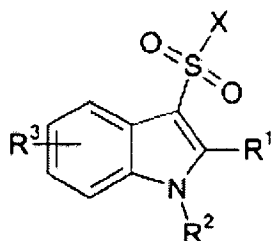
e= IS-Ala-OMe como se obtiene del Ejemplo 7.

f= Pbf-Ala-OMe como se obtiene del Ejemplo 8.3 (ejemplo de comparación).

15 * Se detecta la presencia o ausencia de H-Ala-OMe mediante la prueba de Kaiser.

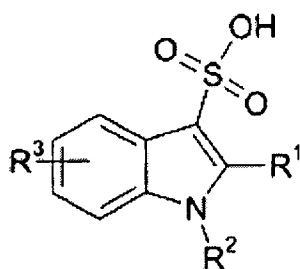
30
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula



(II),

- 5 en donde R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; R² es alquilo C₁₋₆,
alcoxi C₁₋₆ o alquiltio C₁₋₆; o R¹ y R² juntos forman un grupo funcional de la fórmula
-(CH₂)_n-, en donde n es un entero de 3 a 5; R³ es hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₆,
6, alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, fenilo o bencilo; y X es cloro o bromo.
2. El compuesto de la reivindicación 1, con la excepción de cloruro de 1-metilindol-3-sulfonilo.
- 10 3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ y R² son independientemente alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄ o alquiltio C₁₋₄; R³ es hidrógeno o halógeno; y X es cloro o bromo.
4. El compuesto de la reivindicación 1 o 3, en donde R¹ y R² son metilo; R³ es hidrógeno; y X es cloro.
- 15 5. Un proceso para la preparación del compuesto de la fórmula (II) comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de la fórmula

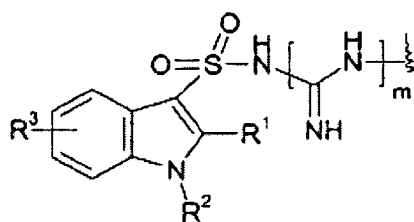


(I),

en donde R¹, R² y R³ son como se define en la reivindicación 1, o una sal del mismo, con cloruro de oxalilo o bromuro de oxalilo.

6. El proceso de la reivindicación 5, en donde R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} , y R^3 es hidrógeno o halógeno.
7. El proceso de la reivindicación 5 o 6, en donde R^1 y R^2 son metilo y R^3 es hidrógeno.
- 5 8. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde la reacción se desarrolla con la sal de piridinio del compuesto de la fórmula (I).
9. Uso del compuesto de la fórmula (II) como se define en la reivindicación 1 como un reactivo protector para la protección de un compuesto orgánico que comprende por lo menos un grupo funcional guanidino y/o por lo menos un grupo amino.
- 10 10. El uso de la reivindicación 9, en donde el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre; R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} , y R^3 es hidrógeno o halógeno.
11. El uso de la reivindicación 9, en donde el grupo funcional guanidino es parte de un
15 residuo arginina o homoarginina.
12. Un proceso para la protección de un compuesto orgánico, que comprende por lo menos un grupo funcional guanidino y/o por lo menos un grupo amino, que comprende la etapa de hacer reaccionar dicho compuesto con el compuesto de la fórmula
20 (II), en donde R^1 , R^2 , R^3 y X son como se define en la reivindicación 1,

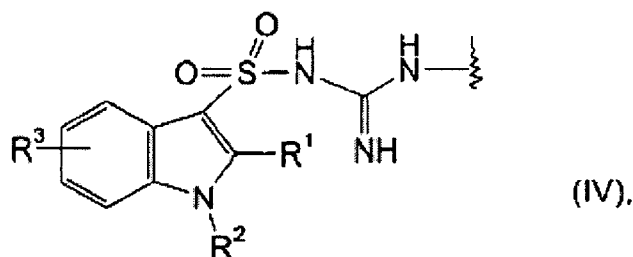
proporcionando así un compuesto, que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula



(III).

- 25 en donde R^1 , R^2 y R^3 son como se definió anteriormente y m es 0 o 1.

13. El proceso de la reivindicación 12, en donde R^1 y R^2 son independientemente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} o alquiltio C_{1-4} y R^3 es hidrógeno o halógeno.
14. El proceso de la reivindicación 12 o 13, en donde R^1 y R^2 son metilo, R^3 es hidrógeno y X es cloro.
- 5 15. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, en donde el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre.
16. Un compuesto orgánico que comprende por lo menos un grupo funcional de la fórmula,



10

en donde R^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; R^2 es alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} o alquiltio C_{1-6} ; o R^1 y R^2 juntos forman un grupo funcional de la fórmula $-(CH_2)_n-$, en donde n es un entero de 3 a 5; y R^3 es hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , fenilo o bencilo.

- 15 17. El compuesto de la reivindicación 16, en donde el compuesto orgánico es un compuesto peptídico opcionalmente unido a resina que opcionalmente se protege en dicha cadena y/o se protege en un terminal libre.

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
12 November 2009 (12.11.2009)

(10) International Publication Number
WO 2009/135645 A1

(51) International Patent Classification:
C07D 209/30 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/EP2009/003210

(22) International Filing Date:
5 May 2009 (05.05.2009)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
08008418.9 5 May 2008 (05.05.2008) EP
61/095,709 10 September 2008 (10.09.2008) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **LONZA LTD** [CH/CH]; Münchensteinerstrasse 38, CH-4052 Basel (CH).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **GIRAUD, Matthieu** [FR/CH]; Route de Lentine 42, Diolty, CH-1950 Sion (CH). **ALBERICIO, Fernando** [ES/ES]; Di Putacio 259, 4a 6a, E-08007 Barcelona (ES). **ISIDRO LLOBET, Albert** [ES/ES]; C/Frederic Soler 60, 1a 4a, EL Prat de Llob, E-08820 Barcelona (ES). **ALVAREZ DOMINGO, Mercedes** [ES/ES]; La Marinada 28, E-08028 Sant Joan Despi (ES).

(74) Agent: **LONZA Ltd**; Münchensteinerstrasse 38, CH-4052 Basel (CH).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii))
- of inventorship (Rule 4.17(iv))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- with amended claims (Art. 19(1))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

(54) Title: INDOLESULFONYL PROTECTING GROUPS FOR PROTECTION OF GUANIDINO AND AMINO GROUPS

(57) Abstract: The invention relates to indolesulfonyl halogenides which are useful for the protection of organic compounds comprising at least one guanidino moiety and/or at least one amino group. The invention further relates to a process for their preparation and their use as protecting reagents. The invention also relates to the process for the protecting reaction and to the protected compounds thereof.

WO 2009/135645 A1

CONFIRMATION COPY

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

For receiving Office use only	
PCT/EP200 9 / 0 0 3 2 1 0	
International Application No. /	
0 5 MAY 2009	(0 5. 05. 09)
International Filing Date	
RO/EP	
Name of receiving Office and "PCT International Application"	
Applicant's or agent's file reference (if desired) (12 characters maximum) LP2142PC00	

Box No. I	TITLE OF INVENTION	
INDOLESULFONYL PROTECTING GROUPS FOR PROTECTION OF GUANIDINO AND AMINO GROUPS		
Box No. II	APPLICANT ☐ This person is also inventor	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)		Telephone No.
LONZA Ltd Münchensteinerstrasse 38 CH-4052 Basel Switzerland		Facsimile No.
		Applicant's registration No. with the Office
☐ E-mail authorization: Marking this check-box authorizes the receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Office or Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. (See also the Notes to Boxes Nos. II and III.)		E-mail address
State (that is, country) of nationality: CH		State (that is, country) of residence: CH
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☒ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box		
Box No. III	FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.		
Box No. IV	AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE	
The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:		☐ agent ☒ common representative
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)		Telephone No.
LONZA Ltd Münchensteinerstrasse 38 4052 Basel CH		+41 61 316 83 68
		Facsimile No.
		+41 61 316 83 29
		Agent's registration No. with the Office
☒ E-mail authorization: Marking this check-box authorizes the receiving Office, the International Searching Authority, the International Bureau and the International Preliminary Examining Authority to use the e-mail address indicated in this Box to send, if the Office or Authority so wishes, advance copies of notifications in respect of this international application. (See also the Notes to Boxes Nos. II and III.)		E-mail address
		patentabteilung.basel@lonza.com
☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.		

Form PCT/RO/101 (first sheet) (July 2008)

See Notes to the request form

CONFIRMATION COPY

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
<i>If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.</i>	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> GIRAUD, Matthieu Route de Lentine 42 Diolly CH-1950 Sion CH	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: FR	State <i>(that is, country)</i> of residence: CH
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> ALBERICIO, Fernando Di Putacio 259 4a 6a ES-08007 Barcelona ES	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: ES	State <i>(that is, country)</i> of residence: ES
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> ISIDRO LLOBET, Albert C/Frederic Soler 60 1a 4a, EL Prat de Llob ES-08820 Barcelona ES	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: ES	State <i>(that is, country)</i> of residence: ES
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: <i>(Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)</i> ALVAREZ DOMINGO, Mercedes La Marinada 28 ES-08028 Sant Joan Despi ES	This person is: ☐ applicant only ☒ applicant and inventor ☐ inventor only <i>(If this check-box is marked, do not fill in below.)</i> Applicant's registration No. with the Office
State <i>(that is, country)</i> of nationality: ES	State <i>(that is, country)</i> of residence: ES
This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated States ☐ all designated States except the United States of America ☒ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.	

Box No. V DESIGNATIONS

The filing of this request constitutes under Rule 4.9(a) the designation of all Contracting States bound by the PCT on the international filing date, for the grant of every kind of protection available and, where applicable, for the grant of both regional and national patents.

However,

- ☐ DE Germany is not designated for any kind of national protection
- ☐ JP Japan is not designated for any kind of national protection
- ☐ KR Republic of Korea is not designated for any kind of national protection
- ☐ RU Russian Federation is not designated for any kind of national protection

(The check-boxes above may only be used to exclude (irrevocably) the designations concerned if, at the time of filing or subsequently under Rule 26bis.1, the international application contains in Box No. VI a priority claim to an earlier national application filed in the particular State concerned, in order to avoid the ceasing of the effect, under the national law, of this earlier national application.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM

The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:

Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country or Member of WTO	regional application: regional Office	international application: receiving Office
item (1) 05 May 2008 (05/05/2008)	08008418.9		EP	
item (2) 10 September 2008 (10/09/2008)	61/095709	US		
item (3)				
item (4)				

☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.

Transmit certified copy: the receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) *(only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of this international application is the receiving Office)* identified above as:

☐ all items ☒ item (1) ☐ item (2) ☐ item (3) ☐ item (4) ☐ other, see Supplemental Box

Restore the right of priority: the receiving Office is requested to restore the right of priority for the earlier application(s) identified above or in the Supplemental Box as item(s) (_____). *(See also the Notes to Box No. VI; further information must be provided to support a request to restore the right of priority.)*

Incorporation by reference: where an element of the international application referred to in Article 11(1)(iii)(d) or (e) or a part of the description, claims or drawings referred to in Rule 20.5(a) is not otherwise contained in this international application but is completely contained in an earlier application whose priority is claimed on the date on which one or more elements referred to in Article 11(1)(iii) were first received by the receiving Office, that element or part is, subject to confirmation under Rule 20.6, incorporated by reference in this international application for the purposes of Rule 20.6.

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA) *(if more than one International Searching Authority is competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):*

ISA/ EP

Continuation of Box No. VII USE OF RESULTS OF EARLIER SEARCH, REFERENCE TO THAT SEARCH

☒ The ISA indicated in Box No. VII is requested to take into account the results of the earlier search(es) indicated below (see also Notes to Box VII; use of results of more than two earlier searches).

Filing date (day/month/year)	Application Number	Country (or regional Office)
05 May 2008 (05/05/2008)	08008418.9-2117	EP

☒ **Statement (Rule 4.12(ii)):** this international application is the same, or substantially the same, as the application in respect of which the earlier search was carried out except, where applicable, that it is filed in a different language.

☒ **Availability of documents:** the following documents are available to the ISA in a form and manner acceptable to it and therefore do not need to be submitted by the applicant to the ISA (Rule 12bis.1(f)):

- ☒ a copy of the results of the earlier search,*
- ☒ a copy of the earlier application,
- ☐ a translation of the earlier application into a language which is accepted by the ISA,
- ☐ a translation of the results of the earlier search into a language which is accepted by the ISA,
- ☒ a copy of any document cited in the results of the earlier search. (If known, please indicate below the document(s) available to the ISA):

☐ **Transmit copy of results of earlier search and other documents** (where the earlier search was not carried out by the ISA indicated above but by the same Office as that which is acting as the receiving Office): the receiving Office is requested to prepare and transmit to the ISA (Rule 12bis.1(c)):

- ☐ a copy of the results of the earlier search,*
- ☐ a copy of the earlier application,
- ☐ a copy of any document cited in the results of the earlier search.

* Where the results of the earlier search are neither available from a digital library nor transmitted by the receiving Office, the applicant is required to submit them to the receiving Office (Rule 12bis.1(a)) (See item 11. in the check-list and also Notes to Box No. VII).

Filing date (day/month/year)	Application Number	Country (or regional Office)
------------------------------	--------------------	------------------------------

☐ **Statement (Rule 4.12(ii)):** this international application is the same, or substantially the same, as the application in respect of which the earlier search was carried out except, where applicable, that it is filed in a different language.

☐ **Availability of documents:** the following documents are available to the ISA in a form and manner acceptable to it and therefore do not need to be submitted by the applicant to the ISA (Rule 12bis.1(f)):

- ☐ a copy of the results of the earlier search,*
- ☐ a copy of the earlier application,
- ☐ a translation of the earlier application into a language which is accepted by the ISA,
- ☐ a translation of the results of the earlier search into a language which is accepted by the ISA,
- ☐ a copy of any document cited in the results of the earlier search. (If known, please indicate below the document(s) available to the ISA):

☐ **Transmit copy of results of earlier search and other documents** (where the earlier search was not carried out by the ISA indicated above but by the same Office as that which is acting as the receiving Office): the receiving Office is requested to prepare and transmit to the ISA (Rule 12bis.1(c)):

- ☐ a copy of the results of the earlier search,*
- ☐ a copy of the earlier application,
- ☐ a copy of any document cited in the results of the earlier search.

* Where the results of the earlier search are neither available from a digital library nor transmitted by the receiving Office, the applicant is required to submit them to the receiving Office (Rule 12bis.1(a)) (See item 11. in the check-list and also Notes to Box No. VII).

☐ Further earlier searches are indicated on a continuation sheet.

Box No. VIII DECLARATIONS

The following declarations are contained in Boxes Nos. VIII (i) to (v) (mark the applicable check-boxes below and indicate in the right column the number of each type of declaration):

Number of
declarations

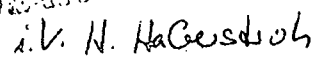
- | | | |
|---|--|---|
| ☐ Box No. VIII (i) | Declaration as to the identity of the inventor | : |
| ☐ Box No. VIII (ii) | Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent | : |
| ☐ Box No. VIII (iii) | Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application | : |
| ☐ Box No. VIII (iv) | Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America) | : |
| ☐ Box No. VIII (v) | Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty | : |

Box No. IX CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING

This international application contains: (a) on paper , the following number of sheets: request (including declaration and supplemental sheets) : 5 description (excluding sequence listing and/or tables related thereto) : 27 claims : 3 abstract : 1 drawings : Sub-total number of sheets : 36 sequence listing : 3 tables related thereto : <i>(for both, actual number of sheets if filed on paper, whether or not also filed in electronic form; see (c) below)</i> Total number of sheets : 39 (b) ☐ only in electronic form (Section 801(a)(i)) (i) ☐ sequence listing (ii) ☐ tables related thereto (c) ☐ also in electronic form (Section 801(a)(ii)) (i) ☐ sequence listing (ii) ☐ tables related thereto Type and number of carriers (diskette, CD-ROM, CD-R or other) on which are contained the ☐ sequence listing: ☐ tables related thereto: <i>(additional copies to be indicated under items 9(ii) and/or 10(ii), in right column)</i>		This international application is accompanied by the following item(s) <i>(mark the applicable check-boxes below and indicate in right column the number of each item)</i> : 1. ☒ fee calculation sheet : 1 2. ☐ original separate power of attorney : 3. ☐ original general power of attorney : 4. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any: : 5. ☐ statement explaining lack of signature : 6. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s): : 7. ☐ translation of international application into <i>(language)</i> : : 8. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material : 9. ☒ sequence listing in electronic form <i>(indicate type and number of carriers)</i> 1 CD-ROM (i) ☒ copy submitted for the purposes of international search under Rule 13ter only (and not as part of the international application) : 1 (ii) ☐ <i>(only where check-box (b)(i) or (c)(i) is marked in left column)</i> additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Rule 13ter : (iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the sequence listing mentioned in left column : 10. ☐ tables in electronic form related to sequence listing <i>(indicate type and number of carriers)</i> (i) ☐ copy submitted for the purposes of international search under Section 802(b-quater) only (and not as part of the international application) : (ii) ☐ <i>(only where check-box (b)(ii) or (c)(ii) is marked in left column)</i> additional copies including, where applicable, the copy for the purposes of international search under Section 802(b-quater) : (iii) ☐ together with relevant statement as to the identity of the copy or copies with the tables mentioned in left column : 11. ☐ copy of results of earlier search(es) (Rule 12bis.1(a)) : 12. ☐ other <i>(specify)</i> : :	
Figure of the drawings which should accompany the abstract: —		Language of filing of the international application: English	

Box No. X SIGNATURE OF APPLICANT, AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

 Dr. Norbert Riegler Director Patents	Lonza Ltd  Dr. Heike Haberstroh Mandatory
--	--

For receiving Office use only		2. Drawings: ☐ received: ☐ not received:
1. Date of actual receipt of the purported international application:	05 MAY 2009 (05.05.09)	
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

For International Bureau use only
Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

ADVANCE E-MAIL

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year) 27 July 2009 (27.07.2009)	To: LONZA Ltd Münchensteinerstrasse 38 CH-4052 Basel SUISSE FIRSEDA GEN 04 Aug 2009 1-1-16-11	
Applicant's or agent's file reference LP2142PC00		IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/EP2009/003210		International filing date (day/month/year) 05 May 2009 (05.05.2009)
International publication date (day/month/year) Not yet published		Priority date (day/month/year) 05 May 2008 (05.05.2008)
Applicant LONZA LTD et al		

1. By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).

2. (If applicable) The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

3. (If applicable) An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
05 May 2008 (05.05.2008)	08008418.9	EP	15 June 2009 (15.06.2009)
10 September 2008 (10.09.2008)	61/095,709	US	23 July 2009 (23.07.2009)

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer Yolaine Cussac e-mail PTO5.PCT@WIPO.INT Telephone No. +41 22 338 74 05
Facsimile No. +41 22 338 82 70	

Form PCT/IB/304 (October 2005)

I/D4XSRMCT10

45

PATENT COOPERATION TREATY

From the
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

To:

see form PCT/ISA/220

PCT

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY
(PCT Rule 43bis.1)

Date of mailing

(day/month/year) see form PCT/ISA/210 (second sheet)

Applicant's or agent's file reference
see form PCT/ISA/220

FOR FURTHER ACTION
See paragraph 2 below

International application No.
PCT/EP2009/003210

International filing date (day/month/year)
05.05.2009

Priority date (day/month/year)
05.05.2008

International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC
INV. C07D209/30

Applicant
LONZA LTD

1. This opinion contains indications relating to the following items:

- ☒ Box No. I Basis of the opinion
- ☐ Box No. II Priority
- ☐ Box No. III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- ☐ Box No. IV Lack of unity of invention
- ☒ Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- ☐ Box No. VI Certain documents cited
- ☒ Box No. VII Certain defects in the international application
- ☐ Box No. VIII Certain observations on the international application

2. FURTHER ACTION

If a demand for international preliminary examination is made, this opinion will usually be considered to be a written opinion of the International Preliminary Examining Authority ("IPEA") except that this does not apply where the applicant chooses an Authority other than this one to be the IPEA and the chosen IPEA has notified the International Bureau under Rule 66.1bis(b) that written opinions of this International Searching Authority will not be so considered.

If this opinion is, as provided above, considered to be a written opinion of the IPEA, the applicant is invited to submit to the IPEA a written reply together, where appropriate, with amendments, before the expiration of 3 months from the date of mailing of Form PCT/ISA/220 or before the expiration of 22 months from the priority date, whichever expires later.

For further options, see Form PCT/ISA/220.

3. For further details, see notes to Form PCT/ISA/220.

Name and mailing address of the ISA:



European Patent Office

D-80298 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0
Fax: +49 89 2399 - 4465

Date of completion of
this opinion

see form
PCT/ISA/210

Authorized Officer

Stroeter, Thomas

Telephone No. +49 89 2399-8088



WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2009/003210

Box No. I Basis of the opinion

1. With regard to the **language**, this opinion has been established on the basis of:
 - ☒ the international application in the language in which it was filed
 - ☐ a translation of the international application into , which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1 (b)).
2. ☐ This opinion has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43bis.1(a))
3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, this opinion has been established on the basis of:
 - a. type of material:
 - ☒ a sequence listing
 - ☐ tablè(s) related to the sequence listing
 - b. format of material:
 - ☒ on paper
 - ☒ in electronic form
 - c. time of filing/furnishing:
 - ☒ contained in the international application as filed.
 - ☒ filed together with the international application in electronic form.
 - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search.
4. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
5. Additional comments:

WRITTEN OPINION OF THE
INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

International application No.
PCT/EP2009/003210

Box No. V Reasoned statement under Rule 43bis.1(a)(i) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims	<u>5-17</u>
	No: Claims	<u>1-4</u>
Inventive step (IS)	Yes: Claims	<u>5-8</u>
	No: Claims	<u>1-4, 9-17</u>
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	<u>1-17</u>
	No: Claims	

2. Citations and explanations

see separate sheet

Box No. VII Certain defects in the international application

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

see separate sheet

18

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

- 1 The present application is directed to indole-3-sulfonylhalogenide compounds which are useful for the protection of amine and guanidine groups in organic compounds.
- 2 Reference is made to the following documents:

D1: WO 01/57045 A (BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA) 9 August 2001
D2: CARPINO L A ET AL, TETRAHEDRON LETTERS, vol. 34, no. 49, 1 January 1993, pages 7829-7832
- 3 Art. 33(2) PCT: The present claims 1-4 overlap with the scope of formula (V) of D1. Furthermore, example 15, wherein an N-methylated indole derivative is formed, shows that the skilled person would work in the overlapping range rendering claims 1-4 not novel over D1. The compounds of D2 are benzofuran derivatives instead and are not novelty-destroying.
- 4 Art. 33(3) PCT: Only document D2 relates to protective groups for amino functions, in particular to the Pbf group as arginine side chain protectant. The present description reveals comparative data to support that the problem of providing an improved protecting group, that can be removed more easily than the structurally related Pbf group, was successfully solved. This advantageous property of the presently claimed compounds, respectively protecting groups, is unexpected for the skilled person in view of the related prior art. **rendering the remaining novel claims inventive on condition that the expression "organic compound" is sufficiently specified:**

Claims 9-17 are related to the protection of an amino or guanidino group in an (and thus in any) "organic compound". However, the skilled person could not

predict starting from the present example protection methods involving a certain peptide that the claimed protection method is applicable to any organic compound since the cleavage is not only dependent on the protective group but also on the substrate to be protected: The electronic and chemical properties of the amino/guanidino groups to be protected can vary significantly depending on the electronic and chemical properties of the parental structure they are attached to. Consequently the binding strength of the protective group to the amino function (here $\text{SO}_2\text{-N}$) can be expected to vary considerably and thus the presently claimed compounds may not be better suitable than Pbf for protection of certain organic compounds. Therefore, it is not credible that any embodiment encompassed by the scope of claims 9-17 actually solves the problem posed above rendering these claims not inventive.

- 5 Art. 33(4) PCT: The subject-matter of the present claims 1-17 is industrially applicable.

Re Item VII

Certain defects in the international application

The requirements of Rule 5.1(a)(ii) PCT are not met since the most relevant background art D1 and D2 revealing the most structurally and technically relevant compounds has not yet been identified in the description.

Possible steps after receipt of the international search report (ISR) and written opinion of the International Searching Authority (WO-ISA)

General information	For all international applications filed on or after 01/01/2004 the competent ISA will establish an ISR. It is accompanied by the WO-ISA. Unlike the former written opinion of the IPEA (Rule 66.2 PCT), the WO-ISA is not meant to be responded to, but to be taken into consideration for further procedural steps. This document explains about the possibilities.
Amending claims under Art. 19 PCT	Within 2 months after the date of mailing of the ISR and the WO-ISA the applicant may file amended claims under Art. 19 PCT directly with the International Bureau of WIPO. The PCT reform of 2004 did not change this procedure. For further information please see Rule 46 PCT as well as form PCT/ISA/220 and the corresponding Notes to form PCT/ISA/220.
Filing a demand for international preliminary examination	In principle, the WO-ISA will be considered as the written opinion of the IPEA. This should, in many cases, make it unnecessary to file a demand for international preliminary examination. If the applicant nevertheless wishes to file a demand this must be done before expiry of 3 months after the date of mailing of the ISR/ WO-ISA or 22 months after priority date, whichever expires later (Rule 54bis PCT). Amendments under Art. 34 PCT can be filed with the IPEA as before, normally at the same time as filing the demand (Rule 66.1 (b) PCT). If a demand for international preliminary examination is filed and no comments/amendments have been received the WO-ISA will be transformed by the IPEA into an IPRP (International Preliminary Report on Patentability) which would merely reflect the content of the WO-ISA. The demand can still be withdrawn (Art. 37 PCT).
Filing informal comments	After receipt of the ISR/WO-ISA the applicant may file informal comments on the WO-ISA directly with the International Bureau of WIPO. These will be communicated to the designated Offices together with the IPRP (International Preliminary Report on Patentability) at 30 months from the priority date. Please also refer to the next box.
End of the international phase	At the end of the international phase the International Bureau of WIPO will transform the WO-ISA or, if a demand was filed, the written opinion of the IPEA into the IPRP, which will then be transmitted together with possible informal comments to the designated Offices. The IPRP replaces the former IPER (international preliminary examination report).
Relevant PCT Rules and more information	Rule 43 PCT, Rule 43bis PCT, Rule 44 PCT, Rule 44bis PCT, PCT Newsletter 12/2003, OJ 11/2003, OJ 12/2003

Bitte beachten Sie, dass angeführte Nichtpatentliteratur (wie z. B. wissenschaftliche oder technische Dokumente) je nach geltendem Recht dem Urheberrechtsschutz und/oder anderen Schutzarten für schriftliche Werke unterliegen könnte. Die Vervielfältigung urheberrechtlich geschützter Texte, ihre Verwendung in anderen elektronischen oder gedruckten Publikationen und ihre Weitergabe an Dritte ist ohne ausdrückliche Zustimmung des Rechtsinhabers nicht gestattet.

Veuillez noter que les ouvrages de la littérature non-brevets qui sont cités, par exemple les documents scientifiques ou techniques, etc., peuvent être protégés par des droits d'auteur et/ou toute autre protection des écrits prévue par les législations applicables. Les textes ainsi protégés ne peuvent être reproduits ni utilisés dans d'autres publications électroniques ou imprimées, ni rediffusés sans l'autorisation expresse du titulaire du droit d'auteur.

Please be aware that cited works of non-patent literature such as scientific or technical documents or the like may be subject to copyright protection and/or any other protection of written works as appropriate based on applicable laws. Copyrighted texts may not be copied or used in other electronic or printed publications or re-distributed without the express permission of the copyright holder.

XS CPRTENFRDE

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2009/003210A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07D209/30

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, BEILSTEIN Data, CHEM ABS Data, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/57045 A (BOEHRINGER INGELHEIM PHARMA [DE]; WINTER KARIN [DE]; WEISER THOMAS [DE] 9 August 2001 (2001-08-09) Formula (V) page 11, line 16 - line 19; claim 1; examples 14,15	1-4
A	CARPINO L A ET AL: "THE 2,2,4,6,7-PENTAMETHYLDIHYDROBENZOFURAN-5-S ULFONYL GROUP (PBF) AS ARGININE SIDE CHAIN PROTECTANT" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 34, no. 49, 1 January 1993 (1993-01-01), pages 7829-7832, XP000943537 ISSN: 0040-4039 the whole document	1-17

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *S* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 July 2009

Date of mailing of the international search report

06/08/2009

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040.
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stroeter, Thomas

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2009/003210

Patent document cited in search report		Publication date		Patent family member(s)	Publication date
WO 0157045	A	09-08-2001	AR	027352 A1	26-03-2003
			AT	277054 T	15-10-2004
			AU	4056101 A	14-08-2001
			CA	2399377 A1	09-08-2001
			DE	10004572 A1	09-08-2001
			EP	1265904 A1	18-12-2002
			ES	2228817 T3	16-04-2005
			JP	2003522180 T	22-07-2003
			MX	PA02007460 A	28-01-2003
			PT	1265904 E	30-11-2004
			TR	200402650 T4	22-11-2004
			US	2002013313 A1	31-01-2002
			UY	26566 A1	27-08-2001