

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

3 016 880

②① N° d'enregistrement national : **14 54342**

⑤① Int Cl⁸ : **C 07 D 249/18** (2013.01)

①②

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② **Date de dépôt** : 15.05.14.

③③ **Priorité** : 29.01.14 FR 1400221.

④③ **Date de mise à la disposition du public de la demande** : 31.07.15 Bulletin 15/31.

⑤⑥ **Liste des documents cités dans le rapport de recherche préliminaire** : *Se reporter à la fin du présent fascicule*

⑥③ **Références à d'autres documents nationaux apparentés** :

Demande(s) d'extension :

⑦① **Demandeur(s)** : LACONDE GUILLAUME — FR.

⑦② **Inventeur(s)** : LACONDE GUILLAUME.

⑦③ **Titulaire(s)** : LACONDE GUILLAUME.

⑦④ **Mandataire(s)** : CABINET REGIMBEAU Société civile.

⑤④ **PROCEDE DE PREPARATION DE BENZOTRIAZOLE N-ACYLES.**

⑤⑦ L'objet de la présente invention concerne l'utilisation d'anhydride phosphonique avec un benzotriazole pour activer un acide carboxylique. L'invention concerne ainsi un procédé d'obtention de benzotriazol N-acylés par la mise en présence d'acide carboxylique et de benzotriazole avec un anhydride phosphonique, ainsi que les produits obtenus par ce biais.

FR 3 016 880 - A1



L'objet de la présente demande de brevet concerne l'utilisation d'anhydride phosphonique avec un benzotriazole afin d'activer un/des acides carboxyliques. Ainsi, l'objet de la présente demande de brevet concerne un procédé d'obtention d'acide(s) carboxylique(s) activé(s), par la mise en réaction dudit acide carboxylique avec un benzotriazole en présence d'anhydride phosphonique, ce qui permet en outre d'obtenir de nouveaux acides carboxyliques activés.

Les acides carboxyliques activés selon la présente invention sont des benzotriazoles-N-acylés. Ainsi, la présente invention peut également être considérée comme relatant la procédure pour préparer des benzotriazoles-N-acylés. La présente invention décrit plus particulièrement la procédure de couplage entre des acides carboxyliques avec le benzotriazole en utilisant des anhydrides phosphoniques et plus particulièrement l'anhydride d'acide propane-phosphonique.

Les acides carboxyliques sont des éléments essentiels pour la synthèse organique. L'une des réactions les plus réalisées sur cette fonction chimique est la réaction de couplage avec une amine pour former des liaisons amides. Pour réaliser cette réaction deux stratégies sont utilisées, soit la mise en réaction entre un acide carboxylique, une amine et un agent de couplage, soit la mise en réaction d'un acide carboxylique « activé », comme un chlorure d'acide, et une amine sans agent de couplage. La liste des acides carboxyliques « activés » est nombreuse cependant les benzotriazoles-N-acylés, qui font partie de cette famille, sont des composés qui présentent de nombreux avantages. Les benzotriazoles-N-acylés sont souvent sous forme cristalline, soluble dans les solvants organiques, stable à l'air, peuvent être utilisés dans des conditions aqueuses et compatibles avec une large gamme de fonctionnalités. Tous ces avantages permettent aux benzotriazoles-N-acylés d'avoir une grande utilité dans la synthèse organique comme la synthèse peptidique.

ART ANTERIEUR

Il existe trois grands types de réactions pour générer les benzotriazoles N-Acylés :

- Soit la mise en réaction d'un acide carboxylique avec le methanesulfonylbentriazole avec de la triéthylamine. Référence : Katritzky, A. R.; Wang, M.; Yang, H.; Zhang, S.; Akhmedov, N. G. ARKIVOC 2002, viii, 134.

-Soit la mise en réaction d'un acide carboxylique avec le Benzotriazole en présence de chlorure de thionyle Référence: Katritzky, A. R.; Angrish, P.; Todadze, E. Synlett 2009, 2392.

-Soit la mise en réaction d'un acide carboxylique avec le Benzotriazole en présence de dicyclohexylcarbodiimide. Référence : Mirna El Khatib, Mohamed Elagawany, Eray Çalis-kan, Emily Faith Davis, Hassan M. Faidallah, Said A. El-feky and Alan R. Katritzky Chem. Comm. 2013, 49, 2631.

Dans la chimie organique moderne, l'importance des réactifs qui augmentent la chimio-sélectivité, la régio-sélectivité et la stéréo-sélectivité sont de plus en plus développés.

5 L'utilisation des méthodes avec du chlorure de thionyle ne sont plus possible maintenant sur des molécules complexes avec de nombreux groupes fonctionnels. L'un des réactifs qui est utilisé dans les réactions de couplage pour créer des liaisons amide et qui est hautement sélectifs, est l'anhydride propane phosphonique. Ce réactif est disponible dans le commerce dans divers solvant et est facile à utiliser.

10 Même si la synthèse des benzotriazoles-N-acylés décrites ci-dessus sont jusqu'ici donné comme efficace, la présence de certains groupements chimiques peuvent être influencés. Il serait donc très souhaitable d'avoir un processus qui peut convertir les acides carboxyliques en benzotriazoles-N-acylés, mais qui en même temps a une très haute chimio-sélectivités, et peut être en outre être utilisé dans les procédés économiquement viables. A titre d'exemple il serait intéressant de pouvoir synthétiser des benzotriazoles-N-acylés avec une méthode universelle
15 sur des structures chimiques qui respecterait des groupements fonctionnels protégés par des groupements protecteurs acido-labile et également baso-labile.

L'objet de la présente invention permet de fournir une méthode efficace, rapide, universelle et économique pour la synthèse de benzotriazoles-N-acylés à partir d'acide carboxylique et de benzotriazole grâce aux anhydrides alkyl-phosphoniques avec une grande pureté, en particulier
20 une grande pureté optique. Notamment, cette méthode issue de l'invention peut être utilisée pour synthétiser à grande échelle des benzotriazoles-N-acylés. C'est l'avantage majeur de l'objet de la présente invention.

La présente invention concerne donc un procédé hautement sélectif pour la préparation de benzotriazoles-N-acylés.

25 RESUME DE L'INVENTION

L'objet de la présente invention concerne ainsi l'utilisation d'anhydride phosphonique avec un benzotriazole pour activer un acide carboxylique.

Un autre objet selon la présente invention concerne donc un procédé d'activation d'un acide carboxylique caractérisé en ce que ledit acide carboxylique est :

- 30 a) mis en réaction avec un benzotriazole ;
- b) en présence d'anhydride phosphonique ; et
- c) optionnellement en présence d'au moins une base et/ou au moins d'un solvant.

Un autre aspect de la présente invention concerne un produit susceptible d'être obtenu selon le procédé de l'invention, caractérisé en ce que ledit produit comprend en outre au moins un groupement acido-labile, hydrogéo-labile, pallado-labile ou baso-labile, préférentiellement le groupement est acido-labile, hydrogéo-labile ou pallado-labile.

- 5 Un autre objet selon la présente invention concerne l'utilisation d'un produit tel qu'obtenu selon la procédé décrit dans la présente demande de brevet avec un composé nucléophile, tel qu'une amine, un acide aminé éventuellement protégé, un peptide éventuellement protégé et/ou greffé sur un support solide.

10

DEFINITIONS

« anhydride phosphonique »

L'anhydride phosphonique est un composé issu de la déshydratation de l'acide phosphonique correspondant. Typiquement, trois résidus d'acides phosphoniques forment une molécule d'anhydride phosphonique.

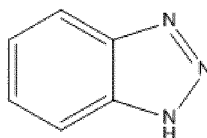
- 15 « acide phosphonique »

Les acides phosphoniques (aussi appelés phosphonates) sont des composés organophosphorés. Typiquement les acides phosphoniques sont de formule $R-PO(OH)_2$ dans lequel classiquement R est un alkyle ou un aryle, mais qui (c'est-à-dire R) dans le cadre de la présente invention peut être généralisable à d'autres groupements fonctionnels tels que les alcènes, les alcynes, cyclo-alcane, cyclo-alcènes, cyclo-alcynes, tous ces groupements

20 pouvant être substitués ou non (y compris les alkyles et les aryles).

« benzotriazole »

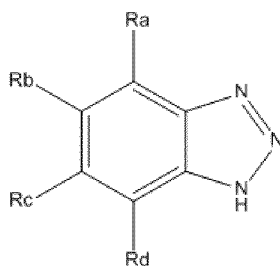
Le benzotriazole, encore appelé azimidobenzène ou encore 1,2,3-triazindène, est de formule :



- 25 Il existe en outre une forme tautomère du benzotriazole selon :



Dans le cadre de la présente invention, c'est le noyau benzotriazole (et en particulier le « NH ») qui permet d'obtenir un acide carboxylique activé (avec un anhydride phosphonique, un acide carboxylique et éventuellement une base et un solvant). Ainsi, l'objet de la présente invention s'étend à tout composé contenant un noyau benzotriazole en tant qu'agent d'activation. Ainsi, le benzotriazole peut être substitué. De manière plus précise le benzotriazole peut être de formule (A):



(A)

dans laquelle Ra, Rb, Rc, Rd, indépendamment les uns des autres peuvent représenter un atome d'hydrogène, un atome d'halogène, un groupe nitro $-(NO_2)$, cyano (CN), alkoxy, aryloxy, alkyle, aryle, hétéroaryle, hydroxy, une amine primaire, secondaire, tertiaire ou quaternaire, ces groupements étant éventuellement protégés ou désactivés (dans le cas des amines par exemple).

« acide carboxylique »

La fonction acide carboxylique, comme cela est bien connu dans l'art, correspond au groupement « -COOH ». Dans le cadre de la présente invention, l'acide carboxylique à activer peut être porté par tout type de composé, préférentiellement un composé généralement organique, par exemple de type alkyle, aryle, acide aminé, peptidique, protéique, etc.

« mis en réaction »

L'expression « mis en réaction » équivaut à toute technique pouvant être utilisée par l'homme du métier pour faire réagir deux composés l'un avec l'autre.

« mis en présence »

L'expression « mis en présence » équivaut à toute technique pouvant être utilisée par l'homme du métier pour mettre en contact deux composés l'un avec l'autre, préférentiellement afin de les faire réagir l'un avec l'autre avec éventuellement l'ajout de composé(s) supplémentaires (telle qu'une base, et/ou un solvant par exemple) qui pourraient en outre avoir un rôle supplémentaire de catalyseur, par exemple.

« base »

Une base selon la présente invention est un produit chimique qui est capable de capturer un ou plusieurs protons ou, réciproquement, de fournir des électrons. Un milieu riche en bases est dit basique ou alcalin. Toute base peut être utilisée dans le cadre de la présente invention, qu'elle soit organique, inorganique, liquide, solide, et/ou supportée sur une phase solide.

- 5 Préférentiellement, la base est organique. Plus préférentiellement, la base est une amine, préférentiellement tertiaire, telles que la triéthylamine, la tripropylamine, la benzyl-N,N-diméthylaniline et/ou la pyridine.

« masse fondue »

- 10 Il est entendu, par « masse fondue » selon la présente invention un solide à température ambiante (20 à 25°C) porté à l'état liquide par chauffage. Les moyens de chauffage sont bien connus de l'homme du métier, tel que par le biais d'un four, d'un bain-marie, ou de tout récipient permettant un apport calorifique à la masse solide à fondre.

« isolation »

- 15 Il est entendu par « isolation » selon la présente invention tout moyen technique connu dans l'art permettant d'obtenir un composé particulier avec un taux de pureté supérieur à 50% en masse de produit(s) obtenu(s), avantageusement supérieur à 60%, plus avantageusement supérieur à 70%, encore plus avantageusement supérieur à 80%, encore plus avantageusement supérieur à 90%, encore plus avantageusement supérieur à 95%, encore plus avantageusement supérieur à 98%, encore plus avantageusement supérieur à 99%,
20 encore plus avantageusement égale à 100% en masse de produit(s) obtenu(s). Alternativement, le produit peut être dissous/contenu dans un solvant ou un mélange de solvants. Il est entendu alors par « produit isolé » un produit en solution dans un solvant ou un mélange de solvants.

« séparation de phase »

- 25 Par « séparation de phase », il est compris selon la présente invention des techniques usuelles de l'art d'extraction liquide-liquide. Cette opération, ordinaire dans l'industrie chimique, permet de séparer des produits ayant des températures d'ébullition très voisines (donc une distillation trop délicate) mais ayant des propriétés physico-chimiques différentes.

- 30 Différentes extractions existent, telle que l'extraction par échange d'ions ou l'extraction non-compensée (c'est-à-dire par simple transfert de molécules ou d'agrégats d'ions globalement neutres). Toutes ces techniques sont bien connues dans l'art.

« filtration »

Par « filtration », il est compris selon la présente invention les techniques usuelles de l'art d'extraction liquide-solide. Ainsi, la filtration est un procédé de séparation permettant de séparer les différentes phases (liquide vs. solide) d'un tel mélange au travers d'un milieu poreux, tel qu'un filtre. L'utilisation d'un filtre permet en effet de retenir les particules du mélange hétérogène qui sont plus grosses que les trous du filtre (porosité). Le liquide ayant subi la filtration est nommé filtrat ou perméat, tandis que la fraction retenue par le filtre est nommé résidu, rétentat ou gâteau.

« lyophilisation »

La lyophilisation est la dessiccation d'un produit préalablement surgelé, par sublimation. De manière générale, le solvant sublimé est l'eau, mais ce peut être également un alcool, du DMSO ou tout autre solvant ou mélange de solvants connu dans l'art pour cet effet.

« chromatographie »

La chromatographie est une méthode physico-chimique de séparation des espèces présentes dans un échantillon en phase homogène liquide ou gazeuse. L'échantillon contenant une ou plusieurs espèces est entraîné par un courant de phase mobile (liquide, gaz ou fluide supercritique) au contact d'une phase stationnaire solide (papier, gélatine, silice, polymère, silice greffée etc). Chaque espèce présente migre à une vitesse qui dépend de ses caractéristiques et de celles des deux phases en présence. Tout type de chromatographie peut être utilisé selon les produits obtenu selon la présente invention. De manière préférée selon la présente invention, il s'agira d'une chromatographie liquide, éventuellement sous pression.

« précipitation »

De manière générale en chimie, un précipité est la formation d'une phase dispersée hétérogène dans une phase majoritaire. La formation d'un précipité est la précipitation.

« cristallisation »

La cristallisation est différente de la précipitation dans le sens où le produit cristallise lentement et que la cristallisation est contrôlée pour éviter de piéger du solvant ou des impuretés dans les cristaux et ainsi obtenir une forme cristalline particulière.

« alkyle C₁ à C₁₆»

Dans la présente invention, le terme « alkyle C₁ à C₁₆», est une chaîne hydrocarbonée saturée, linéaire ou ramifiée, comportant de 1 à 16 atomes de carbone, comme par exemple un groupement méthyle, éthyle, isopropyle, *tertio*-butyle, n-pentyle, etc.

« alcène C₂ à C₁₆»

Dans la présente invention, le terme « alcène C₂ à C₁₆ », est une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée, comportant de 2 à 16 atomes de carbone et au moins une double liaison (encore appelée « insaturation ») entre deux atomes de carbone, comme par exemple un groupement éthylène, prop-1-ène, prop-2-ène, but-1-ène, but-2-ène, but-3-ène, 2-méthylprop-2-ène, pent-2-ène, etc.

« alcyne C₂ à C₁₆ »

Dans la présente invention, le terme « alcyne C₂ à C₁₆ », est une chaîne hydrocarbonée linéaire ou ramifiée, comportant de 2 à 16 atomes de carbone et au moins une triple liaison (encore appelé « double insaturation ») entre deux atomes de carbone, comme par exemple un groupement acétylène, prop-1-yne, prop-2-yne, but-1-yne, but-2-yne, but-3-yne, 1-méthylprop-2-yne, pent-2-yne, etc.

« cyclo-alkyle en C₃ à C₁₆ »

L'expression « groupe cycloalkyle en C₃ à C₁₆ » dans la présente invention désigne un groupe alkyle cyclique contenant 3 à 16 atomes de carbone. Des exemples de groupes cycloalkyles couverts par l'objet de la présente invention sont les groupes cyclopropyles, cyclobutyles, cyclopentyles, cyclohexyles, etc.

« cyclo-alcène en C₃ à C₁₆ »

L'expression « groupe cyclo-alcène en C₃ à C₁₆ » dans la présente invention désigne un groupe alcène cyclique contenant 3 à 16 atomes de carbone, préférentiellement contenant de 6 à 12 atomes de carbone. Des exemples de groupes cyclo-alcènes couverts par l'objet de la présente invention sont les groupes cyclo-pentènes, cyclo-hexènes, cyclo-heptènes, etc.

« cyclo-alcyne en C₃ à C₁₆ »

L'expression « groupe cyclo-alcyne en C₃ à C₁₆ » dans la présente invention désigne un groupe alcyne cyclique contenant 3 à 16 atomes de carbone, préférentiellement contenant de 6 à 12 atomes de carbone. Des exemples de groupes cyclo-alcènes couverts par l'objet de la présente invention sont les groupes cyclo-hexynes, cyclo-heptynes, cyclo-octynes, etc.

« aryle en C₃ à C₁₂ »

L'expression « aryle en C₃ à C₁₂ » dans la présente invention désigne un groupe cyclique aromatique (mono- ou poly-cyclique) contenant entre 3 et 12 atomes de carbone, préférentiellement de 6 à 10 atomes de carbone. Des exemples de groupes aryles couverts par l'objet de la présente invention sont les groupes phényles, naphthyles, etc.

« hétéroaryle en C₃ à C₁₂ »

Par groupement « hétéroaryle en C₃ à C₁₂ », on entend dans le cadre de la présente invention un groupe cyclique aromatique (mono- ou poly-cyclique) comportant de 3 à 12 atomes de carbone et de préférence de 3 à 6 atomes de carbone, comprenant un ou plusieurs cycles et comprenant éventuellement un ou plusieurs hétéroatome(s), préférentiellement 1, 2 ou 3 hétéroatomes, en particulier pris parmi l'oxygène, l'azote ou le soufre, comme par exemple un groupement thiophènes, thiazoles, imidazoles, pyrazoles, pyrroles, pyridine, quinolines, indoles, pyridazines, quinoxalines, dihydrobenzofuranes, benzodioxole, benzotriazole, etc.

« éventuellement substitué »

10 Il est entendu dans la présente invention que lorsque l'expression « éventuellement substitué » est appliquée à un fragment moléculaire particulier, ceci désigne que ledit fragment moléculaire particulier est mono- ou poly-substitué avec un ou des hétéroatomes ou des fragments moléculaires tels qu'un atome d'halogène, un groupe nitro (NO₂), un groupe cyano (CN), un groupe alkoxy en C₁ à C₆, un groupe aryloxy en C₅ à C₁₀, un groupe alkyle en C₁ à C₆, un
15 groupe hydroxy éventuellement protégé, une amine primaire, secondaire, tertiaire ou quaternaire éventuellement protégés.

« alkoxy en C₁ à C₆ »

L'expression « alkoxy en C₁ à C₆ » dans la présente invention désigne un groupe alkyle en C₁ à C₆ lié à un oxygène. Des exemples de groupes alkoxy couverts par l'objet de la présente
20 invention sont les groupes méthoxy, éthoxy etc...

« groupe aryloxy en C₅ à C₁₀ »

L'expression « groupe aryloxy en C₅ à C₁₀ » dans la présente invention désigne un groupe aryle en C₅ à C₁₀ lié à un oxygène. Un exemple de groupe aryloxy couvert par l'objet de la présente invention est le groupe phénoxy.

25 « groupe hydroxy »

L'expression « groupe hydroxy » dans la présente invention désigne : « -OH »

« atome d'halogène »

L'expression « atome d'halogène » dans la présente invention désigne un atome de fluor, de chlore, de brome ou d'iode.

« acide aminé »

Dans la présente invention, l'expression « acide aminé » doit être comprise comme toute molécule présentant au moins un acide carboxylique, au moins une amine et au moins un carbone reliant cette amine et cet acide carboxylique. Préférentiellement, les acides aminés pouvant être utilisés dans le cadre de la présente invention sont les acides aminés dits « naturels » et/ou les acides aminés « inhabituels pouvant contribuer à la synthèse de protéines non-fonctionnelles ». Préférentiellement les acides aminés de la présente invention sont de forme L.

« acides aminés inhabituels pouvant contribuer à la synthèse de protéines non-fonctionnelles »

Dans le cadre de la présente invention, par l'expression « acides aminés inhabituels pouvant contribuer à la synthèse de protéines non-fonctionnelles » (c'est-à-dire pouvant éviter l'hydrolyse protéique par la machinerie cellulaire), il est compris les acides aminés suivants : 4-fluorotryptophane, 5-fluorotryptophane, 6-fluorotryptophane, 5-méthyltryptophane, S-tritylcystéine, sélénocystéine, sélénométhionine, éthionine, b-(2-thiényl)alanine, b-chloroalanine, thiazolylalanine, triazolalanine, p-fluorophénylalanine, o-fluorophénylalanine, m-fluorophénylalanine, dihydroxyphénylalanine, 2,5-dihydrophénylalanine, norleucine, acide azétidine-2-carboxylique, thioproline, acide pipécolique, canavanine, indospicine, 3,4-déhydroproline, histidinol.

« acides aminés naturels »

L'expression « acide aminé naturel » représente entre autres les acides aminés suivants : la glycine (Gly), l'alanine (Ala), la valine (Val), la leucine (Leu), l'isoleucine (Ile), la sérine (Ser), la thréonine (Thr), la phénylalanine (Phe), la tyrosine (Tyr), le tryptophane (Trp), la cystéine (Cys), la méthionine (Met), la proline (Pro), l'hydroxyproline (Hpr), l'acide aspartique (Asp), l'asparagine (Asn), la glutamine (Gln), l'acide glutamique (Glu), l'histidine (His), l'arginine (Arg), l'ornithine (Orn), et la lysine (Lys). Les acides aminés naturels préférés selon la présente invention sont les acides aminés de la série L. Les acides aminés naturels préférés dans le cadre de la présente invention sont en outre les acides aminés suivants : la sérine (Ser), la thréonine (Thr), la tyrosine (Tyr), le tryptophane (Trp), la cystéine (Cys), la méthionine (Met), l'hydroxyproline (Hpr), l'acide aspartique (Asp), l'asparagine (Asn), la glutamine (Gln), l'acide glutamique (Glu), l'histidine (His), l'arginine (Arg), l'ornithine (Orn), et la lysine (Lys). Les acides aminés, qu'ils soit naturels ou dit inhabituels, sont convenablement protégés par des groupements protecteurs (P), par exemple l'amine α peut être protégée par un groupe Boc, Fmoc ou Cbz, et les fonctions chimiques des chaînes latérales par un ou plusieurs groupements protecteurs P par exemple choisis parmi benzyle (Bzl), tert-butyl (tBu), Cbz (Z), tosyl (Tos), formyl, Boc, pbf, trityl (trt), tert-butoxy (O-tBu), ou encore allyle.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, les acides aminés (L et/ou D, le cas échéant) protégés pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention peuvent être Boc-Gly-OH, Boc-Ala-OH, Boc-(β)Ala-OH, Boc-Val-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Ile-OH, Boc-Ser(Bzl)-OH, Boc-Phe-OH, Boc-Thr(Bz)-OH, Boc-Tyr(Bzl)-OH, Boc-Trp(formyl)-OH, Boc-Cys(Bzl)-OH, Boc-Met-OH, Boc-Pro-OH, Boc-Asp(Bzl)-OH, Boc-Asp(OtBu)-OH, Boc-Asn-OH, Boc-Gln-OH, Boc-Glu(Bzl)-OH, Boc-His(Bzl)-OH, Boc-Arg(Tos)-OH ou Boc-Lys(Z)-OH. Préférentiellement

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, les acides aminés (L et/ou D, le cas échéant) préférés protégés pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention peuvent être Fmoc-Gly-OH, Fmoc-Ala-OH, Fmoc-(β)Ala-OH, Fmoc-Val-OH, Fmoc-Leu-OH, Fmoc-Ile-OH, Fmoc-Thr(tBu)-OH, Fmoc-Ser(tBu)-OH, Fmoc-Phe-OH, Fmoc-Tyr(tBu)-OH, Fmoc-Trp(Boc)-OH, Fmoc-Cys(Trt)-OH, Fmoc-Met-OH, Fmoc-Pro-OH, Fmoc-Asp(tBu)-OH, Fmoc-Asn(Trt)-OH, Fmoc-Gln(Trt)-OH, Fmoc-Glu(tBu)-OH, Fmoc-His(Boc)-OH, Fmoc-His(Trt)-OH, Fmoc-Arg(Pbf)-OH, Fmoc-Lys(Z)-OH ou Fmoc-Lys(Boc)-OH.

Dans un mode de réalisation particulier de l'invention, les acides aminés (L et/ou D, le cas échéant) préférés protégés pour la mise en œuvre du procédé selon l'invention peuvent être Z-Gly-OH, Z-Ala-OH, Z-(β)Ala-OH, Z-Val-OH, Z-Leu-OH, Z-Ile-OH, Z-Phe-OH, Z-Met-OH, Z-Pro-OH, Z-Asn(Trt)-OH ou Z-Gln(Trt)-OH.

« chaîne latérale d'un acide aminé »

Selon la présente invention, le terme « chaîne latérale d'un acide aminé » représente le fragment porté par le carbone α d'un acide aminé. Par exemple, les chaînes latérales d'acides aminés naturels tels que la glycine, la valine, l'alanine et l'acide aspartique correspondent à l'atome d'hydrogène, aux groupes isopropyle, méthyle et CH_2COOH respectivement.

Les chaînes latérales d'autres acides aminés peuvent être inclus dans la définition de chaîne latérale d'un acide aminé, telles que celles des acides aminés suivants: acide 4-amino tétrahydropyran-4-carboxylique, allylglycine, acide diamino butyrique, acide diamino propionique, aminosérine, acide aminobutyrique, amino butylglycine, phénylglycine, 4-chloro-phénylalanine, 4-fluoro-phénylalanine, 4-nitro-phénylalanine, citrulline, cyclohexylalanine, thiénylalanine, et de leurs semblables.

Les chaînes latérales des acides aminés peuvent être protégées par des groupements protecteurs (P) et plus particulièrement *N*-protecteurs, *O*-protecteurs ou *S*-protecteurs lorsque ces chaînes contiennent les hétéroatomes correspondants. La protection de certaines des fonctions réactives des peptides est obligatoire lors de la synthèse desdits peptides. En effet, la synthèse des peptides se fait classiquement par l'activation de la fonction acide carboxylique

d'un acide aminé, ou d'une chaîne d'acides aminés, par l'utilisation d'un agent de couplage. Cet acide activé est mis en présence d'un acide aminé, ou d'une chaîne d'acides aminés, dont l'amine terminale n'est pas protégée, résultant ainsi en la formation d'une liaison amide, encore appelée liaison peptidique. Les conditions de couplage ainsi que les agents de couplage utilisés sont très bien connus de l'homme du métier.

« peptide »

Selon la présente invention, le terme « peptide » doit être compris comme un polymère d'acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique et/ou pseudopeptidique. Un peptide contient généralement entre 2 et 80 (voire 100 acides aminés, la limite supérieure n'étant pas clairement définie). Dans le cadre de la présente invention, les peptides contiennent entre 2 et 80 acides aminés, préférentiellement entre 3 et 20 acides aminés.

« protéine »

Selon la présente invention, le terme « protéine » doit être compris comme un polymère d'acides aminés reliés entre eux par une liaison peptidique et/ou pseudopeptidique, de la même façon que pour un peptide, à la différence près que dans le cas de la protéine il s'agit généralement d'un polymère comprenant plus de 80 acides aminés (avec, généralement, une fonction biologique clairement définie (telle qu'une catalyse, ou protéine structurelle de cellule)).

« liaison peptidique »

Une liaison peptidique relie un groupement carbonyle CO et un groupement amine NH dans un polymère d'acides aminés, c'est-à-dire un peptide. La liaison peptidique est donc une liaison amide reliant deux acides aminés entre eux.

« liaison pseudopeptidique »

Une liaison pseudopeptidique présente des caractères physico-chimiques identiques ou proches de celles des liaisons peptidiques. Une liaison pseudopeptidique va donc relier deux acides aminés dont au moins l'un d'entre eux n'est pas un acide aminé naturel. Dans le cadre de la présente invention, les liaisons pseudopeptidiques peuvent relier l'un quelconque des groupements : C=O, C=S, C=CH₂, C=NH, CH₂, CH(OH), CH,

à l'un quelconque des groupements :

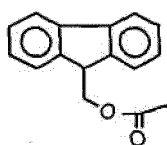
NH, NH-NH-, N(OH), N(C₁-C₆ alkyle), en particulier N(CH₃), N(C₁-C₆ alkyle substitué par un OH), N(NH₂), CH₂, O, S, CH,

à l'exception de la liaison amide (peptidique) et des liaisons impossibles telles que -CH=CH₂-.

Les liaisons pseudopeptidiques préférées selon la présente invention sont les liaisons reliant CO et N(C₁-C₆ alkyle), en particulier N(CH₃), CO et NH-NH-, CO et O, CO et S, C=S et NH, C=CH₂ et NH, CH et CH par une double liaison, C=O et N(OH).

« peptide/protéine éventuellement protégé »

- 5 Les groupements protecteurs (P) sont également des groupements connus de l'homme du métier, et identique, sinon proches de ceux des acides aminés. Ces groupements protecteurs et leur utilisation sont décrits dans des ouvrages tels que par exemple Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York, 2007 4e édition ; Harrison et al. "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vol. 1 à 8 (J. Wiley & sons, 1971 to 1996). En outre, des
- 10 techniques de synthèse peptidique sont décrites dans Paul Lloyd-Williams, Fernando Albericio, Ernest Giralt, "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins", CRC Press, 1997 ou Houben-Weyl, "Methods of Organic Chemistry, Synthesis of Peptides and Peptidomimetics", Vol E 22a, Vol E 22b, Vol E 22c, Vol E 22d., M. Goodmann Ed., Georg Thieme Verlag, 2002. Les groupements protecteurs portés par un atome d'azote seront
- 15 désignés en tant que groupements *N*-protecteurs. Il en est de même pour les groupements *S*-protecteurs, *O*-protecteurs, etc. Par exemple, un hydroxy peut être protégé par un groupement trityl, ou un acide carboxylique peut être protégé sous forme d'un ester tert-butylique. Dans le cas d'une synthèse sur support solide, c'est la résine qui sert de groupement protecteur à la fonction carboxylique C-terminale.
- 20 La protection du groupe amino de l'acide aminé peut être effectuée par exemple par un groupe tert-butyloxycarbonyle (désigné ci-après par Boc-) ou un groupe -9-fluorénylméthylloxycarbonyle (désigné ci-après par Fmoc-) représenté par la formule :



- 25 La protection est effectuée selon les procédés connus de l'art antérieur. Par exemple, la protection par le groupe Boc- peut être obtenue en faisant réagir l'acide aminé avec le di-tert-butylpyrocarbonate (Boc₂O).

« acide aminé protégé »

- Selon la présente invention, il s'agit d'un acide aminé comprenant au moins un groupement protecteur comme définit ci-dessus, préférentiellement il s'agit d'un acide aminé comprenant au
- 30 moins un groupement acido-labile, hydrogéo-labile, pallado-labile ou baso-labile, plus préférentiellement le groupement est acido-labile, hydrogéo-labile ou pallado-labile, encore plus préférentiellement le groupement est acido-labile.

Par exemple, les groupement protecteur peut être choisi dans le groupe consistant en acétyle (Ac), acétamidométhyle (Acm), allyle (All), allyloxycarbonyle (Alloc), tert-butoxycarbonyl (Boc), benzyle (Bzl ou Bn), tertibutyl (tBu), p-méthylbenzyl (4-MeBzl), (Cbz or Z), 1-(4,4-diméthyl-2,6-dioxocyclohex-1-ylidène)éthyl (Dde), 4-{N-[1-(4,4-diméthyl-2,6-dioxocyclohexylidène)-3-méthylbutyl]-amino} benzyl (Dmab), 1-cyclopropyl-1-méthyléthyl (Dmcp), dinitrophényl (Dnp), -9-fluorénylméthoxyloxycarbonyle (Fmoc), formyl (For), γ -cyclohexyl (cHx), p-méthoxytrityl (Mmp), O-3-méthyl-pent-3-yl (OMpe), 4-Méthoxy-2,3,6-triméthylbenzènesulfonyl (Mtr), 4-méthyltrityl (Mtt), 2,2,4,6,7-pentaméthyl-dihydrobenzofuran-5-sulfonyl (Pbf), pentafluorophényl ester (OPfp), O-2-phénylisopropyl ester (O-2-PhiPr), 2,2,5,7,8-pentaméthylchroman-6-sulfonyl (Pmc), tosyl (Tos), et trityl (Trt), xanthyl (Xan).

Les groupements protecteurs préférés selon la présente invention sont pour l'amine α l'un quelconque des groupes Boc, Fmoc ou Cbz, et pour les fonctions chimiques des chaînes latérales les groupes Bzl, tBu, Cbz, Tos, formyl, Boc, Pbf, Trt, O-tBu ou allyle.

15 « groupements protecteurs acido-labiles »

Il s'agit de groupements protecteurs qui sont sensibles aux conditions acides, tels que décrits dans des ouvrages tels que par exemple Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York, 2007 4e édition ; Harrison et al. "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vol. 1 à 8 (J. Wiley & sons, 1971 to 1996). En outre, des techniques de synthèse peptidique sont décrites (et donc les groupements protecteurs usuels dans ce domaine) dans Paul Lloyd-Williams, Fernando Albericio, Ernest Giralt, "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins", CRC Press, 1997 ou Houben-Weyl, "Methods of Organic Chemistry, Synthesis of Peptides and Peptidomimetics", Vol E 22a, Vol E 22b, Vol E 22c, Vol E 22d., M. Goodman Ed., Georg Thieme Verlag, 2002.

25 Des exemples de tels groupements peuvent être les groupements Boc, Ac, tBu, Pbf et/ou Trt, préférentiellement Boc et / ou tBu

« groupements protecteurs baso-labiles »

Il s'agit de groupements protecteurs qui sont sensibles aux conditions basiques, tels que décrits dans des ouvrages tels que par exemple Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley, New York, 2007 4e édition ; Harrison et al. "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vol. 1 à 8 (J. Wiley & sons, 1971 to 1996). En outre, des techniques de synthèse peptidique sont décrites (et donc les groupements protecteurs usuels dans ce domaine) dans Paul Lloyd-Williams, Fernando Albericio, Ernest Giralt, "Chemical Approaches to the Synthesis of Peptides and Proteins", CRC Press, 1997 ou Houben-Weyl, "Methods of Organic Chemistry, Synthesis of

Peptides and Peptidomimetics”, Vol E 22a, Vol E 22b, Vol E 22c, Vol E 22d., M. Goodman Ed., Georg Thieme Verlag, 2002. Préférentiellement, il s’agit de groupement protecteur baso-
labiles sensibles à des pH compris entre 7 et 14, plus préférentiellement sensibles à des pH
compris entre 7,5 et 10, et plus préférentiellement encore sensibles à des pH compris entre 8 et
5 9.

Un exemple d’un tel groupement peut être le groupement Fmoc.

“groupement protecteurs hydrogeno-labiles”

Il s’agit de groupements protecteurs qui sont sensibles à des conditions impliquant une
hydrogénation, tels que décrits dans des ouvrages tels que par exemple Greene, “Protective
10 Groups in Organic Synthesis”, Wiley, New York, 2007 4e édition ; Harrison et al. “Compendium
of Synthetic Organic Methods”, Vol. 1 à 8 (J. Wiley & sons, 1971 to 1996).

Des exemples de tels groupements peuvent être les groupements Cbz et/ou Bzl,
préférentiellement Cbz.

“groupement protecteurs pallado-labiles”

15 Il s’agit de groupements protecteurs qui sont sensibles à des conditions impliquant du
palladium, tels que décrits dans des ouvrages tels que par exemple Greene, “Protective Groups
in Organic Synthesis”, Wiley, New York, 2007 4e édition ; Harrison et al. “Compendium of
Synthetic Organic Methods”, Vol. 1 à 8 (J. Wiley & sons, 1971 to 1996).

Des exemples de tels groupements peuvent être les groupements All, Bzl et/ou Alloc,
20 préférentiellement Alloc et / ou All.

« quantités totales de produits mis en œuvre supérieures au gramme »

Le procédé selon la présente invention, permet de mettre en œuvre des « quantités totales de
produits mis en œuvre supérieures au gramme ». Selon la présente invention, cela veut dire
que la quantité totale du produit obtenu par le biais du procédé selon l’invention est supérieure
25 à un gramme.

« quantités totales de produits mis en œuvre supérieures au kilogramme »

Le procédé selon la présente invention, permet de mettre en œuvre des « quantités totales de
produits mis en œuvre supérieures au kilogramme ». Selon la présente invention, cela veut dire
que la quantité totale du produit obtenu par le biais du procédé selon l’invention est supérieure
30 à un kilogramme.

« quantités totales de produits mis en œuvre supérieures à la tonne »

Le procédé selon la présente invention, permet de mettre en œuvre des « quantités totales de produits mis en œuvre supérieures au tonne ». Selon la présente invention, cela veut dire que la quantité totale du produit obtenu par le biais du procédé selon l'invention est supérieure à une tonne.

« mélanges d'énantiomères »

L'expression « mélanges d'énantiomères » dans la présente invention désigne tout mélange d'énantiomères. Le mélange peut être racémique, c'est-à-dire 50/50% de chaque énantiomère en poids (w/w), ou non racémique, c'est-à-dire enrichi en l'un ou l'autre des énantiomères de telle sorte que les ratios w/w sont compris entre 50/50% et 75%/25%, entre 75/25% et 90/10% ou supérieur à 95% pour l'un des 2 énantiomères en comparaison avec l'autre.

« mélanges de diastéréoisomères »

L'expression « mélanges de diastéréoisomères » dans la présente invention désigne tout mélange de diastéréoisomères quel que soit la proportion.

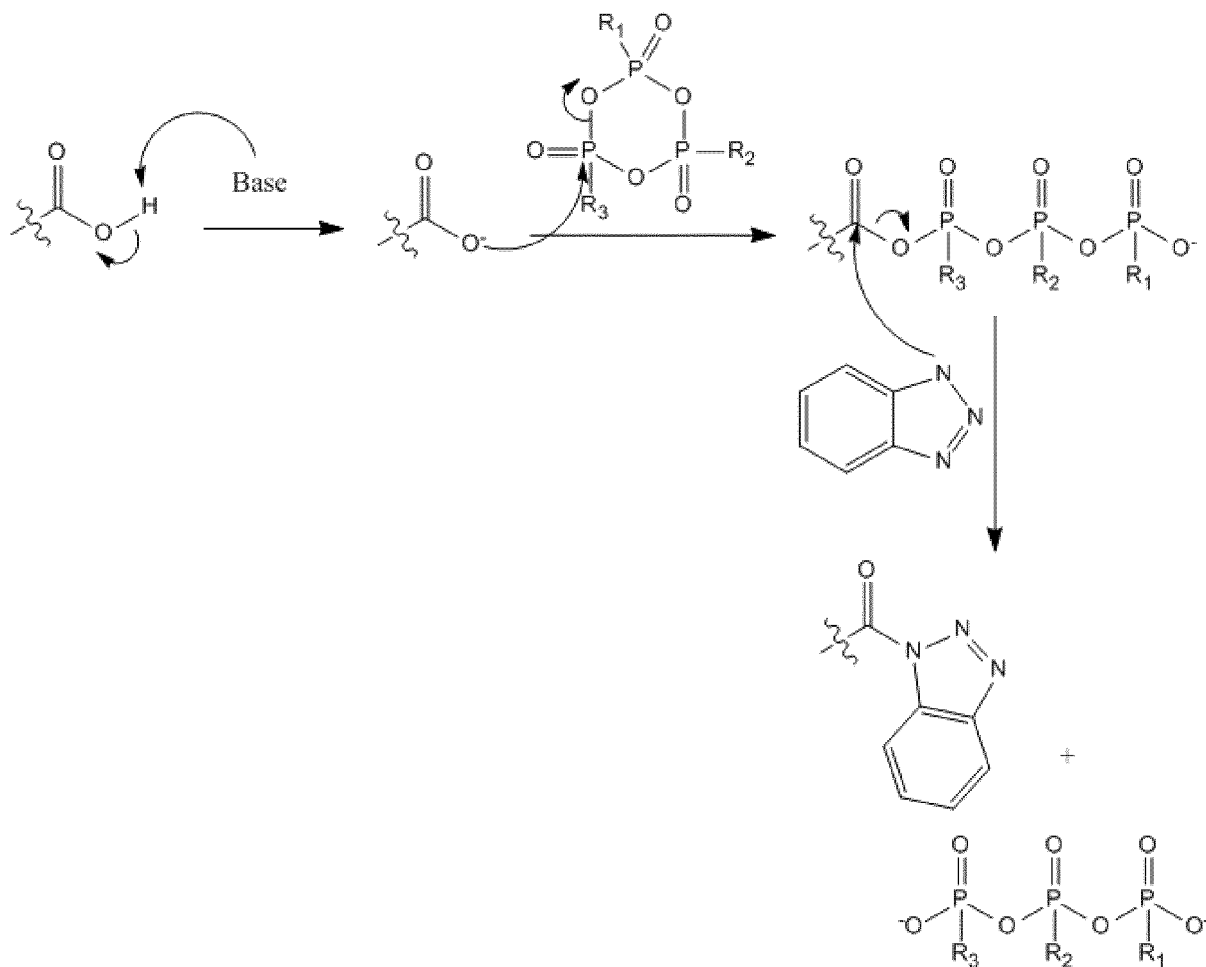
15

20

25

DESCRIPTION DETAILLEE

Le mécanisme d'action proposé par l'inventeur pour expliquer la réaction qu'il a découverte pourrait être la suivante :



5

Schéma 1

Dans un mode de réalisation préféré, un acide carboxylique et du benzotriazole sont convertis en un benzotriazole-N-acylé par simple chauffage avec de l'anhydride phosphonique de manière analogue au procédé décrit selon la présente invention. Cela donne également lieu à un processus très élégant et même extrêmement sélectif pour convertir directement les acides carboxyliques et benzotriazole en un benzotriazole-N-acylé, puis on le fait réagir avec un anhydride d'acide phosphonique, en présence éventuellement d'une base.

10

Avantageusement, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que l'anhydride phosphonique est ajouté en solution dans un solvant ou sous forme de masse fondue sur l'acide carboxylique et/ou le benzotriazole.

15

En effet, l'anhydride phosphonique peut être ajouté au milieu de réaction soit sous la forme d'une masse fondue ou sous forme d'un mélange liquide dissous dans un solvant.

Les solvants appropriés ici sont ceux qui ne subissent pas de réactions secondaires avec l'anhydride phosphonique. Par exemple, ces solvants peuvent être tous les solvants organiques aprotiques, tels que, par exemple, le butane, pentane, hexane, heptane, octane, cyclopentane, cyclohexane, cycloheptane, cyclo-octane, dichlorométhane, chloroforme, tétrachlorométhane, 1,2-dichloroéthane, 1,1,2,2-tétrachloroéthane, méthyle acétate, éthyle acétate, propyle acétate, butyle acétate, diméthylformamide (DMF), diéthylformamide, diméthylacetamide, diéthylacetamide, diéthyléther, THF, dioxane, acétonitrile, etc. De manière préférée, le solvant de réaction est un solvant de formamide, tel que le DMF et plus préférentiellement le DMF anhydre.

- 10 L'addition de l'anhydride phosphonique a lieu au moins en stoechiométrique par rapport au composé de départ (acides carboxyliques et benzotriazoles), mais peut aussi être super-stœchiométrique, par exemple dans la ration 2/1 en mol/mol.

La concentration du milieu en acide carboxylique de départ peut être comprise entre 0,1 et 10 mol/litre de solution, plus préférentiellement entre 0,5 et 5 mol/litre, plus préférentiellement entre 15 0,8 et 2 mol/L et encore plus préférentiellement de 1 mol/litre ($\pm 0,05$ mol/litre) avant ajout de l'anhydride phosphonique.

Les réactions sont réalisées de préférence en introduisant d'abord l'acide carboxylique correspondant et le benzotriazole dans un solvant, puis à chauffer à la température de réaction et ensuite, par addition dosée de l'anhydride phosphonique en tant que masse fondue ou en 20 solution dans un des solvants mentionnés ci-dessus, le dit acide carboxylique est converti en benzotriazoles-N-acylés désirés.

Avantageusement, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce qu'il présente une étape d'isolation de l'acide carboxylique activé par le biais d'au moins une étape supplémentaire parmi les suivantes :

- 25 d) hydrolyse et séparation de phase,
e) hydrolyse et filtration,
f) évaporation du/des solvants d'extraction et/ou de réaction,
g) lyophilisation,
h) chromatographie,
30 i) précipitation de l'acide carboxylique activé, et/ou
j) cristallisation de l'acide carboxylique activé obtenu.

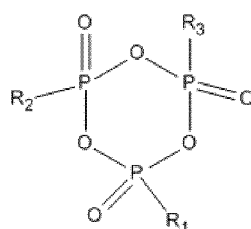
Le produit de la réaction est de préférence isolé par l'hydrolyse et la séparation de phase simple, car les sous-produits des anhydrides d'acide phosphonique est généralement très facilement soluble dans l'eau. Selon la nature du produit à être isolé, après extractions peut également être nécessaire ici. L'anhydride phosphonique sous-produit formé ne perturbe souvent des réactions secondaires, ce qui signifie que même l'utilisation directe des solutions de réaction résultant donne souvent de très bons résultats.

De manière avantageuse, le traitement se fait par l'introduction de l'eau dans le milieu. Les quantités d'eau sont en générales supérieures à 5 fois celles du/des solvants de réaction, préférentiellement égales à environ 10 fois (± 1 fois) celles du/des solvants de réaction.

10 De manière avantageuse, l'essorage se fait sur fritté ou filtre pour récupérer le produit attendu.

De manière préférée, le séchage se fait sous vide. Le séchage peut être amélioré en augmentant la température sous vide, par exemple à une température supérieure ou égale à 25°C, supérieure ou égale à 50°C, mais généralement inférieure à 100°C voire préférentiellement inférieure à 70°C.

15 Dans un mode de réalisation avantageux, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que l'anhydride phosphonique est de formule (I) suivante :



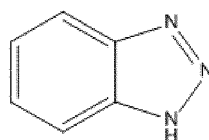
(I)

dans laquelle les fragments R_1 , R_2 , et R_3 indépendamment les uns des autres, sont des groupements alkyles en C_1 à C_{16} linéaires ou ramifiés éventuellement substitués, des groupements alcènes en C_2 à C_{16} linéaires ou ramifiés éventuellement substitués, des groupements alcynes en C_2 à C_{16} linéaires ou ramifiés éventuellement substitués, des groupements cycloalkyles en C_3 à C_{16} éventuellement substitués, des groupements cyclo-alcènes en C_3 à C_{16} éventuellement substitués, des groupements cyclo-alcynes en C_3 à C_{16} éventuellement substitués des groupements aryles et/ou hétéroaryles en C_3 à C_{12} éventuellement substitués, préférentiellement des groupements alkyles en C_1 à C_{12} linéaires éventuellement substitués.

De manière avantageuse, R_1 , R_2 , et R_3 indépendamment les uns des autres, sont des groupements alkyles en C_1 à C_6 linéaires, tels que des fragments n-propyles, n-butyles, n-pentyles, n-hexyle.

De manière plus avantageuse, R_1 , R_2 , et R_3 sont identiques et sont un groupement alkyle en C_1 à C_6 linéaire, préférentiellement choisi dans le groupe consistant en les fragments n-propyles, n-butyles, n-pentyles, n-hexyle. De manière préférée, R_1 , R_2 , et R_3 sont des fragments n-propyles.

- 5 Dans un mode de réalisation particulier, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que le benzotriazole est de formule (II) suivante (aussi appelé « Bt-H »):



(II).

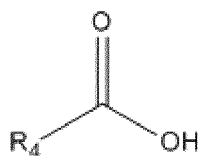
- Dans « Bt-H », l'hydrogène « H » est le seul hydrogène directement lié à un atome d'azote. C'est cet atome d'azote (formules tautomères comprises) qui sera directement lié sur le fragment carbonyle sensé être activé.

Ainsi dans un mode de réalisation préféré, le procédé selon l'invention permet d'obtenir des acides aminés activé par Bt.

- En particulier, les acides aminés activés par Bt, qu'ils soit naturels ou dit inhabituels, sont convenablement protégés par des groupements protecteurs (P), par exemple l'amine α peut être protégée par un groupe Boc, Fmoc ou Cbz, et les fonctions chimiques des chaînes latérales par un ou plusieurs groupements protecteurs P, par exemple choisis parmi benzyle (Bzl), tert-butyl (tBu), Cbz (Z), tosyl (Tos), formyl, Boc, pbf, trityl (trt), tert-butoxy (O-tBu), ou encore allyle.
- 15 Plus particulièrement, les acides aminés (susceptibles d'être) obtenus selon le procédé de la présente invention peuvent être par exemple Boc-Gly-Bt, Boc-Ala-Bt, Boc-(β)Ala-Bt, Boc-Val-Bt, Boc-Leu- Bt, Boc-Ile-Bt, Boc-Ser(Bzl)-Bt, Boc-Phe-Bt, Boc-Thr(Bz)-Bt, Boc-Tyr(Bzl)-Bt, Boc-Trp(formyl)-Bt, Boc-Cys(Bzl)-Bt, Boc-Met-Bt, Boc-Pro-Bt, Boc-Asp(Bzl)-Bt, Boc-Asp(OtBu)-Bt, Boc-Asn-Bt, Boc-Gln-Bt, Boc-Glu(Bzl)-Bt, Boc-His(Bzl)-Bt, Boc-Arg(Tos)-Bt ou Boc-Lys(Z)-Bt.
- 25 Des acides aminés également (susceptibles d'être) obtenus selon le procédé de la présente invention peuvent être par exemple Fmoc-Gly-Bt, Fmoc-Ala-Bt, Fmoc-(β)Ala-Bt, Fmoc-Val-Bt, Fmoc-Leu-Bt, Fmoc-Ile-Bt, Fmoc-Thr(tBu)-Bt, Fmoc-Ser(tBu)-Bt, Fmoc-Phe-Bt, Fmoc-Tyr(tBu)-Bt, Fmoc-Trp(Boc)-Bt, Fmoc-Cys(Trt)-Bt, Fmoc-Met-Bt, Fmoc-Pro-Bt, Fmoc-Asp(tBu)-Bt, Fmoc-Asn(Trt)-Bt, Fmoc-Gln(Trt)-Bt, Fmoc-Glu(tBu)-Bt, Fmoc-His(Boc)-Bt, Fmoc-His(Trt)-Bt, Fmoc-Arg(Pbf)-Bt, Fmoc-Lys(Z)-Bt ou Fmoc-Lys(Boc)-Bt.
- 30

Des acides aminés également (susceptibles d'être) obtenus selon le procédé de la présente invention peuvent être par exemple Z-Gly-Bt, Z-Ala-Bt, Z-(β)Ala-Bt, Z-Val-Bt, Z-Leu-Bt, Z-Ile-Bt, Z-Phe-Bt, Z-Met-Bt, Z-Pro-Bt, Z-Asn(Trt)-Bt ou Z-Gln(Trt)-Bt.

Dans un mode de réalisation préféré, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que l'acide carboxylique est un acide aminé éventuellement protégé, un peptide ou une protéine éventuellement protégés, ou répond à la formule (III) suivante :



(III),

dans laquelle R_4 représente un groupement alkyle en C_1 à C_{16} linéaire ou ramifié éventuellement substitué, un groupement alcène en C_2 à C_{16} linéaire ou ramifié éventuellement substitué, un groupement alcyne en C_2 à C_{16} linéaire ou ramifié éventuellement substitué, un groupement cycloalkyle en C_3 à C_{16} éventuellement substitué, un groupement cyclo-alcène en C_3 à C_{16} éventuellement substitué, un groupement cyclo-alcyne en C_3 à C_{16} éventuellement substitué, un groupement aryle en C_3 à C_{12} ou hétéroaryle en C_3 à C_{12} éventuellement substitué, préférentiellement l'acide carboxylique de formule (III) est un acide aminé éventuellement protégé ou un peptide/protéine éventuellement protégée.

De manière préférée, R_4 est un groupement alkyle en C_1 à C_{12} éventuellement substitué, linéaire ou ramifié, un groupement cyclo-alkyle en C_3 à C_{12} , un groupement alcène en C_1 à C_{12} , un groupement alcyne en C_1 à C_{12} , un groupement aryle en C_3 à C_{12} ou un groupement hétéroaryle en C_3 à C_{12} .

Dans un mode de réalisation particulier, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que la température de la réaction d'activation est comprise entre -30°C et 180°C , préférentiellement entre 0°C et 120°C , plus préférentiellement entre 15°C et 80°C . Il a été en outre remarqué que les températures inférieures à 15°C , préférentiellement inférieures à 0°C , sont généralement corrélées avec des stéréo-sélectivités élevées.

De manière préférée, la température de réaction est à température ambiante (20°C à 25°C).

De manière préférée, la température de réaction est à 25°C .

De plus, le temps de réaction dépend de la température utilisée et est généralement inférieur à 12 heures. De manière préférée, le temps de réaction (conversion supérieure ou égale à 80%) est inférieur à une heure, préférentiellement inférieur à 30 minutes, et plus préférentiellement égale à 20 minutes (± 5 minutes).

Dans un mode de réalisation préféré, le procédé selon l'invention est caractérisé en ce que la base est une amine, préférentiellement tertiaire, telles que la triéthylamine, la tripropylamine, la benzyl-N,N- diméthylaniline et/ou la pyridine.

De manière préférée, la base est la pyridine.

- 5 La base est généralement ajoutée dans un rapport allant de 1 à 5 équivalents molaire, de préférence 1 à 3, en particulier 1 à 2 équivalents par rapport à l'acide carboxylique et le benzotriazole.

De manière préférée, pour un équivalent molaire d'acide carboxylique, on ajoute entre 1 et 1,5 équivalents de benzotriazole, entre 2 et 4 équivalents de pyridine et entre 1,5 et 2,5 équivalents d'anhydride phosphonique.

10

De manière plus préférée, pour un équivalent molaire d'acide carboxylique, on ajoute entre 1,2 équivalent de benzotriazole, 3 équivalents de pyridine et 2 équivalents d'anhydride phosphonique.

Le procédé selon la présente invention est caractérisé en ce que les quantités totales de produits mis en œuvre peuvent être supérieures au gramme, préférentiellement supérieures au kilogramme, voire supérieures à la tonne.

15

Toutes les procédures sont caractérisées par de très bon rendement (typiquement entre 90 et 100%, et plus particulièrement >95%) et avec un simple retraitement, associé avec une absence de réaction secondaire et d'épimérisations.

- 20 La sélectivité et les puretés des produits de la réaction selon l'invention sont de l'ordre de 97 à 100%.

Les meilleurs résultats ayant été observés à ce jour (rendement supérieur à 90%, pureté supérieure à 95% avec un traitement « facilité ») sont :

- Le solvant est du DMF anhydre ;
- 25 - La concentration du milieu en acide carboxylique de départ est d'environ 1 mol/litre de solution avant l'ajout de l'anhydride propylphosphonique (T3P) en solution dans le DMF ;
- La base est la pyridine ;
- les quantités de réactifs sont 1 équivalent d'acide carboxylique (éventuellement aminé),
- 30 1,2 équivalents de benzotriazole, 3 équivalents de pyridine, 2 équivalents de T3P ;
- La réaction est faite à 25°C ;
- Le temps de réaction est alors d'environ 20 minutes.

En ce qui concerne le traitement « facilité », il s'agit de:

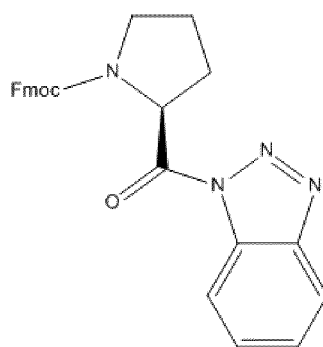
- Introduction de l'eau dans le milieu (10 fois le volume de DMF de la réaction) ;
- Essorage sur fritté pour récupérer le produit attendu ;
- Séchage avec une cloche sous vide à une température de 50°C.

5 La présente invention est illustrée par les exemples ci-dessous.

EXEMPLES

Plusieurs exemples de synthèse sont détaillés ci-dessous. Un tableau récapitulatif est trouvé en exemple 7.

Exemple 1 :



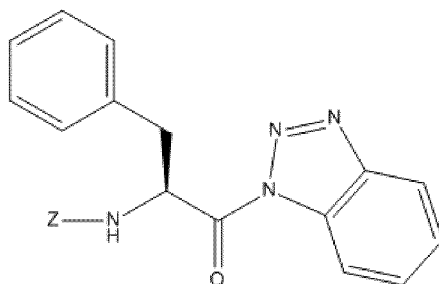
10

Fmoc-L-Pro-Bt

0,05 mol de Fmoc-L-Pro-OH, 0,06 mol de benzotriazole and 0,15 mol de pyridine sont initialement introduits dans 50 ml de DMF. 0,1 mol d'anhydride propane phosphonique en solution dans le DMF (50% v/v) sont ajoutés pendant une heure, puis le mélange est agité pendant trois heures à la température de 25°C. Après ce temps-là, la réaction montre en HPLC une conversion de 100%. 500 ml d'eau dans le milieu réactionnel ont été additionnés et le composé isolé par filtration. Le rendement de cette réaction est de 97%, pureté HPLC 97%.

15

Exemple 2 :



20

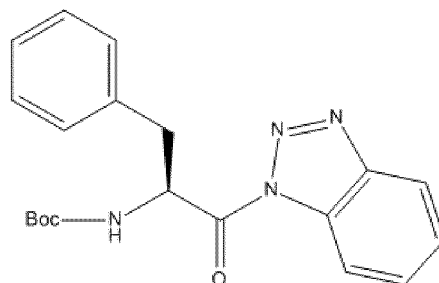
Z-L-Phe-Bt

0,05 mol de Z-L-Phe-OH, 0,06 mol de benzotriazole and 0,15 mol de pyridine sont initialement introduits dans 50 ml de DMF. 0,1 mol d'anhydride propane phosphonique en solution dans le DMF (50% v/v) sont ajoutés pendant une heure, puis le mélange est agité pendant trois heures

25

à la température de 25°C. Après ce temps-là la réaction montre en HPLC une conversion de 100%. 500 ml d'eau dans le milieu réactionnel ont été additionnés et le composé isolé par filtration. Le rendement de cette réaction est de 98%, pureté HPLC 97%.

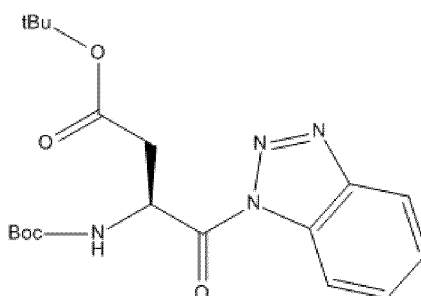
5 Exemple 3 :



Boc-L-Phe-Bt

0,05 mol de Boc-L-Phe-OH, 0,06 mol de benzotriazole and 0,15 mol de pyridine sont initialement introduits dans 50 ml de DMF. 0,1 mol d'anhydride propane phosphonique en solution dans le DMF (50% v/v) sont ajoutés pendant une heure, puis le mélange est agité pendant trois heures à la température de 25°C. Après ce temps-là, la réaction montre en HPLC une conversion de 100%. 500 ml d'eau dans le milieu réactionnel ont été additionnés et le composé isolé par filtration. Le rendement de cette réaction est de 98%, pureté HPLC 99%.

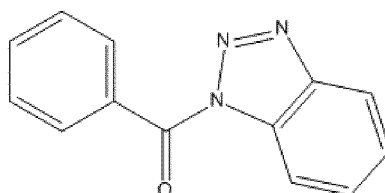
15 Exemple 4 :



Fmoc-L-Asp(OtBu)-Bt

0,05 mol de Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH, 0,06 mol de benzotriazole et 0,15 mol de pyridine sont initialement introduits dans 50 ml de DMF. 0,1 mol d'anhydride propane phosphonique en solution dans le DMF (50% v/v) sont ajoutés pendant une heure, puis le mélange est agité pendant trois heures à la température de 25°C. Après ce temps-là, la réaction montre en HPLC une conversion de 100%. 500 ml d'eau dans le milieu réactionnel ont été additionnés et le composé isolé par filtration. Le rendement de cette réaction est de 95%, pureté HPLC 96%.

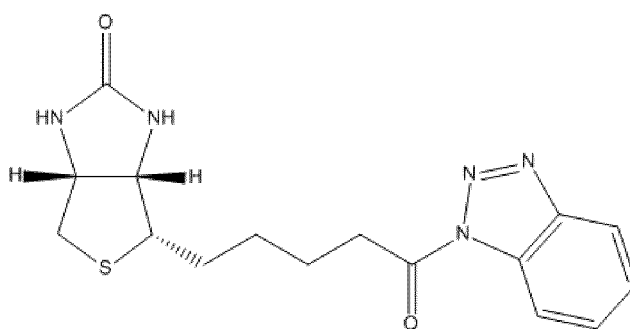
25 Exemple 5 :



Benzyl-Bt

0,05 mol d'acide benzoïque, 0,06 mol de benzotriazole et 0,15 mol de pyridine sont initialement introduits dans 50 ml de DMF. 0,1 mol d'anhydride propane phosphonique en solution dans le DMF (50% v/v) sont ajoutés pendant une heure, puis le mélange est agité pendant trois heures à la température de 25°C. Après ce temps-là, la réaction montre en HPLC une conversion de 100%. 500 ml d'eau dans le milieu réactionnel ont été additionnés et le composé isolé par filtration. Le rendement de cette réaction est de 92%, pureté HPLC 97%.

10 Exemple 6 :



Biotine-Bt

0,005 mol de biotine, 0,006 mol de benzotriazole et 0,015 mol de pyridine sont initialement introduits dans 5 ml de DMSO. 0,01 mol d'anhydride propane phosphonique en solution dans le DMF (50% v/v) sont ajoutés pendant une heure, puis le mélange est agité pendant trois heures à la température de 25°C. Après ce temps-là, la réaction montre en HPLC une conversion de 100%. 50 ml d'eau dans le milieu réactionnel ont été additionnés et le composé isolé par filtration. Le rendement de cette réaction est de 58%, pureté HPLC 98%. Le rendement un peu plus faible constaté s'explique essentiellement par une technique d'isolation moins bien adaptée dans le cas de la biotine (très soluble dans l'eau). Il aurait été possible d'améliorer ce rendement par d'autres moyens de purifications usuels (chromatographie ou encore un choix de solvants mieux adaptés au cas particulier de la biotine).

Exemple 7 :

25 Tableau 1 : liste des composés synthétisés par le procédé selon l'invention

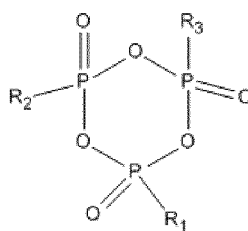
Acides aminés benzotriazoles	Masse exacte	Analyse LCMS M+H ⁺
Boc-Gly-Bt	276,12	277,3
Boc-L-Phe-Bt	366,16	367,2
Boc-L-Asp(OtBu)-Bt	390,19	391,2
Fmoc-L-Ala-Bt	412,15	413,2

Fmoc-D-Ala-Bt	412,15	413,2
Fmoc- β -Ala-Bt	412,15	413,2
Fmoc-L-Met-Bt	472,15	473,2
Fmoc-L-Phe-Bt	488,18	489,2
Fmoc-L-Pro-Bt	438,16	439,2
Fmoc-L-Lys(Boc)-Bt	569,26	570,3
Fmoc-L-Lys(Z)-Bt	603,24	604,3
Fmoc-L-Glu(OtBu)-Bt	526,22	527,3
Fmoc-L-Trp(Boc)-Bt	627,24	628,3
Fmoc-L-Arg(Pbf)-Bt	749,29	750,3
Fmoc-L-Asn(Trt)-Bt	697,26	698,3
Fmoc-L-His(Trt)-Bt	720,28	721,4
Z-L-Phe-Bt	400,15	401,2

N.B.: tous les composés synthétisés dans le tableau 1 l'ont été par des procédés identiques (avec quelques modifications d'usage) à ceux décrits dans les exemples 1 à 6, prouvant la polyvalence de la méthode selon la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'anhydride phosphonique avec un benzotriazole pour activer un acide carboxylique.
- 5
2. Procédé d'activation d'un acide carboxylique caractérisé en ce que ledit acide carboxylique est :
- a) mis en réaction avec un benzotriazole ;
- b) en présence d'anhydride phosphonique ; et
- 10 c) optionnellement en présence d'au moins une base et/ou au moins d'un solvant.
3. Procédé selon la revendication 2 caractérisé en ce que l'anhydride phosphonique est ajouté en solution dans un solvant ou sous forme de masse fondue sur l'acide carboxylique et/ou le benzotriazole.
- 15
4. Procédé selon la revendication 2 ou 3 caractérisé en ce qu'il présente une étape d'isolation de l'acide carboxylique activé par le biais d'au moins une étape supplémentaire parmi les suivantes :
- 20 d) hydrolyse et séparation de phase,
- e) hydrolyse et filtration,
- f) évaporation du/des solvants d'extraction et/ou de réaction,
- g) lyophilisation,
- h) chromatographie,
- 25 i) précipitation de l'acide carboxylique activé, et/ou
- j) cristallisation de l'acide carboxylique activé obtenu.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 4, caractérisé en ce que l'anhydride phosphonique est de formule (I) suivante :

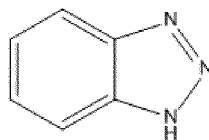


(I)

dans laquelle les fragments R_1 , R_2 , et R_3 indépendamment les uns des autres, sont des groupements alkyles en C_1 à C_{16} linéaires ou ramifiés éventuellement substitués, des groupements alcènes en C_2 à C_{16} linéaires ou ramifiés éventuellement substitués, des groupements alcynes en C_2 à C_{16} linéaires ou ramifiés éventuellement substitués, des groupements cycloalkyles en C_3 à C_{16} éventuellement substitués, des groupements cyclo-alcènes en C_3 à C_{16} éventuellement substitués, des groupements cyclo-alcynes en C_3 à C_{16} éventuellement substitués des groupements aryles et/ou hétéroaryles en C_3 à C_{12} éventuellement substitués, préférentiellement des groupements alkyles en C_1 à C_{12} linéaires éventuellement substitués.

10

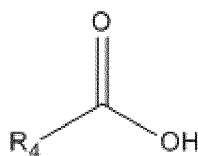
6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 5, caractérisé en ce que le benzotriazole est de formule (II) suivante :



(II).

15

7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que l'acide carboxylique est un acide aminé éventuellement protégé, un peptide ou une protéine éventuellement protégés, ou répond à la formule (III) suivante :



(III),

20

dans laquelle R_4 représente un groupement alkyle en C_1 à C_{16} linéaire ou ramifié éventuellement substitué, un groupement alcène en C_2 à C_{16} linéaire ou ramifié éventuellement substitué, un groupement alcyne en C_2 à C_{16} linéaire ou ramifié éventuellement substitué, un groupement cycloalkyle en C_3 à C_{16} éventuellement substitué, un groupement cyclo-alcène en C_3 à C_{16} éventuellement substitué, un groupement cyclo-alcyne en C_3 à C_{16} éventuellement substitué, un groupement aryle et/ou hétéroaryle en C_3 à C_{12} éventuellement substitué, préférentiellement l'acide carboxylique est un acide aminé éventuellement protégé.

25

8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 7, caractérisé en ce que la base est une amine, préférentiellement tertiaire, telles que la triéthylamine, la tripropylamine, la benzyl-N,N- diméthylaniline et/ou la pyridine.
- 5 9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 8, caractérisé en ce que les quantités totales de produits mis en œuvre sont supérieurs au gramme, préférentiellement supérieurs au kilogramme, voire supérieurs à la tonne.
- 10 10. Produit susceptible d'être obtenu selon le procédé de l'une quelconque des revendications 2 à 9, caractérisé en ce que ledit produit comprend en outre au moins un groupement acido-labile, hydrogéo-labile, pallado-labile ou baso-labile.
- 15 11. Utilisation d'un produit selon la revendication 9 et/ou 10 avec un composé nucléophile, tel qu'une amine, un acide aminé éventuellement protégé, un peptide éventuellement protégé et/ou greffé sur un support solide.



**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**

N° d'enregistrement
national

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

FA 797822
FR 1454342

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
Y	EP 0 014 834 A1 (HOECHST AG [DE]) 3 septembre 1980 (1980-09-03) * revendications; exemples * -----	1-11	C07D249/18 C07C51/00 C07F9/38 C07C231/02 C07K1/08
Y	WO 2010/048941 A2 (UNIV MARBURG PHILIPPS [DE]; STEINMETZER TORSTEN [DE]; BECKER GERO [DE]) 6 mai 2010 (2010-05-06) * page 18 - page 19; revendication 25 * -----	1-11	
Y	WO 2010/036632 A1 (BOEHRINGER INGELHEIM INT [DE]; COOK BRIAN NICHOLAS [US]; DISALVO DARRE) 1 avril 2010 (2010-04-01) * page 94 - page 95; revendication 18(iii) * -----	1-11	
Y	WO 2004/103983 A1 (BIOCON LTD [IN]; ASWATHANARAYANAPPA CHANDRASHEK [IN]; PUTHIAPARAMPIL T) 2 décembre 2004 (2004-12-02) * revendications * -----	1-11	
Y	BERNHAGEN, WOLFGANG: "PPA: A new reagent for peptide synthesis", PHARMACEUTICAL BIOTECHNOLOGY INTERNATIONAL CODEN: PBIIF5, 1996, pages 31-32, 34, XP008170336, * le document en entier * -----	1-11	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC) C07D C07F C07C C07K
Y	UEDA, MITSURU ET AL: "Synthesis of polyamides by direct polycondensation with propylphosphonic anhydride as an activating agent", POLYMER JOURNAL, vol. 20, no. 6, 1988, pages 477-483, XP002730831, DOI: 10.1295/POLYMJ.20.477 10.1295/POLYMJ.20.477 * le document en entier * -----	1-11	
	-/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
9 octobre 2014		Frelon, Didier	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention	
X : particulièrement pertinent à lui seul		E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure	
Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un		à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date	
autre document de la même catégorie		de dépôt ou qu'à une date postérieure.	
A : arrière-plan technologique		D : cité dans la demande	
O : divulgation non-écrite		L : cité pour d'autres raisons	
P : document intercalaire		& : membre de la même famille, document correspondant	

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)


**RAPPORT DE RECHERCHE
PRÉLIMINAIRE**
N° d'enregistrement
national
 établi sur la base des dernières revendications
dépôtées avant le commencement de la recherche

 FA 797822
FR 1454342

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, des parties pertinentes		
Y,D	ELKHATIB, MIRNA ET AL: "Total synthesis of cyclic heptapeptide Rolloamide B", CHEMICAL COMMUNICATIONS, vol. 49, 2013, pages 2631-2633, XP002726740, DOI: 10.1039/C3CC39291K * schemes 3 and 4, first steps * -----	1-11	
Y,D	KATRITZKY, ALAN R. ET AL: "Chiral acylation with N-(protected .alpha.-aminoacyl)benzotriazoles for advantageous syntheses of peptides and peptide conjugates", SYNLETT, vol. 15, 2009, pages 2392-2411, XP002726748, DOI: 10.1055/S-0029-1217827 * schemes 1-3 * -----	1-11	
Y	KUNIEDA, TAKEHISA ET AL: "A new reagent for activating carboxyl groups: diphenyl 2-oxo-3-oxazolinyolphosphonate", TETRAHEDRON LETTERS, vol. 22, no. 13, 1981, pages 1257-1258, XP002726739, DOI: 10.1016/S0040-4039(01)90289-8 * le document en entier * -----	1-11	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
		Date d'achèvement de la recherche	Examineur
		9 octobre 2014	Frelon, Didier
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			

1

EPO FORM 1503 12.99 (P04C14)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 1454342 FA 797822**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du 09-10-2014

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication			
EP 0014834	A1	03-09-1980	AU 531637 B2	01-09-1983			
			AU 5469480 A	24-07-1980			
			CA 1138439 A1	28-12-1982			
			DE 2901843 A1	31-07-1980			
			DK 20980 A	19-07-1980			
			EP 0014834 A1	03-09-1980			
			ES 487617 A1	16-06-1980			
			IL 59138 A	15-05-1983			
			JP H0144693 B2	29-09-1989			
			JP S55100346 A	31-07-1980			
			US 4331592 A	25-05-1982			

			WO 2010048941	A2	06-05-2010	EP 2349312 A2	03-08-2011
US 2011312873 A1	22-12-2011						
WO 2010048941 A2	06-05-2010						

WO 2010036632	A1	01-04-2010	AP 2739 A	30-09-2013			
			AR 073689 A1	24-11-2010			
			AU 2009296839 A1	01-04-2010			
			CA 2737472 A1	01-04-2010			
			CN 102227425 A	26-10-2011			
			CO 6351735 A2	20-12-2011			
			EA 201100524 A1	31-10-2011			
			EC SP11010932 A	29-04-2011			
			EP 2346868 A1	27-07-2011			
			JP 5507567 B2	28-05-2014			
			JP 2012503664 A	09-02-2012			
			KR 20110060904 A	08-06-2011			
			MA 32655 B1	01-09-2011			
			NZ 591115 A	26-10-2012			
			PE 08542011 A1	23-12-2011			
			TW 201018683 A	16-05-2010			
			US 2010093724 A1	15-04-2010			
			US 2011086846 A1	14-04-2011			
			US 2012035370 A1	09-02-2012			
			US 2012136158 A1	31-05-2012			
UY 32140 A	30-04-2010						
WO 2010036632 A1	01-04-2010						

WO 2004103983	A1	02-12-2004	AU 2003237595 A1	13-12-2004			
			WO 2004103983 A1	02-12-2004			
