

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 909 198**

51 Int. Cl.:

C07C 323/52 (2006.01)

A61K 31/215 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.05.2011 E 17197350 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.11.2021 EP 3299356**

54 Título: **Proceso para la preparación de pleuromutilinas**

30 Prioridad:

26.05.2010 EP 10450092

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

05.05.2022

73 Titular/es:

**NABRIVA THERAPEUTICS GMBH (100.0%)
Leberstrasse 20
1110 Wien, AT**

72 Inventor/es:

**RIEDL, ROSEMARIE;
SPENCE, LEE y
HEILMAYER, WERNER**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 909 198 T3

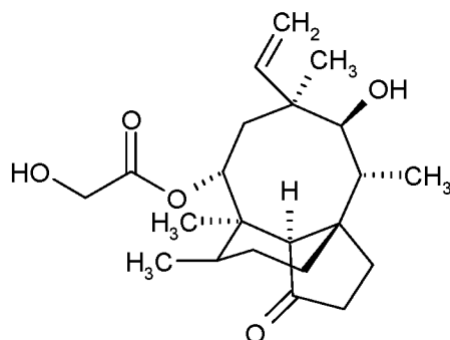
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

DESCRIPCIÓN

Proceso para la preparación de pleuromutilinas

La presente invención se refiere a un proceso para la preparación de 14-O-[[[4-amino-2-hidroxi-ciclohexil]-sulfanil]-acetil]-mutilina cristalina y a sales cristalinas de la misma.

Pleuromutilina, un compuesto de fórmula:



Pleuromutilina

es un antibiótico natural, por ejemplo, producido por basidiomicetes *Pleurotus mutilus* y *P. passeckerianus*, véase, por ejemplo, The Merck Index, 12ª edición, artículo 7694.

Se ha desarrollado una serie de otras pleuromutilinas que tienen la estructura de anillo principal de pleuromutilina y que están sustituidas en el grupo hidroxil primario, por ejemplo, como antimicrobianos. Dada su pronunciada actividad antimicrobiana, se ha descubierto que un grupo de derivados de pleuromutilina, ciclohexil-sulfanil-acetil-mutilinas sustituidas con amino-hidroxi, tal como se describen en la patente internacional WO 2008/113089, reviste un especial interés. Tal como se describe en la patente internacional WO2008/11089 14-O-[[[4-amino-2-hidroxiciclohexil]- sulfanil]-acetil]-mutilinas son compuestos particularmente útiles ya que se ha demostrado su actividad contra patógenos Gram –positivos y Gram-negativos, por ejemplo, asociados con infecciones del tracto respiratorio y la piel y la estructura cutánea. En cuanto a la producción de isómeros/diastereómeros sustancialmente puros de este grupo de compuestos, existe la necesidad de contar con un proceso de producción que sea conveniente para su uso a escala industrial y que además evite el uso de materiales de partida costosos, reactivos o disolventes peligrosos para el medioambiente o etapas de purificación laboriosas y que requieren mucho tiempo. Los procesos de producción descritos en la patente internacional WO 2008/113089 implican la purificación cromatográfica de los compuestos preparados de acuerdo con etapas de síntesis por separado y los diastereómeros finales se separan por cromatografía de HPLC quiral no pudiéndose aplicar a escala industrial.

Sorprendentemente, se han descubierto intermediarios cristalinos que, por una parte, tienen un potencial de purificación química inesperado, lo que es importante para los procesos de producción de ciclohexil-sulfanil-acetil-mutilinas sustituidas con hidroxil puras evitando etapas de purificación cromatográfica y separación.

Se ha señalado que las 14-O-[[[4-amino-2-hidroxi-ciclohexil]-sulfanil]-acetil]-mutilinas son nuevos posibles fármacos para el mercado humano que cumplen con los requerimientos reguladores definidos en la correspondiente Guía ICH (Consejo Internacional de armonización de los requisitos técnicos para el registro de medicamentos de uso humano). La guía ICH sobre impurezas en nuevos fármacos (Q3A(R2)) incluye los siguientes umbrales:

Dosis diaria máxima	Umbral de notificación	Umbral de identificación	Umbral de calificación
≤ 2 g	0,05 %	0,10	0,15 %
> 2 g	0,03 %	0,05 %	0,05 %

Tal como se puede deducir de los umbrales ICH indicados, es deseable que todas las impurezas desconocidas individuales estén por debajo del área 0,10 % y que las impurezas de estructura elucidada estén por debajo de 0,15 % respectivamente. El proceso proporcionado de acuerdo con la presente invención permite producir API (principios activos farmacéuticos) dentro de las especificaciones deseadas y cumpliendo los requisitos ICH.

Por otra parte, de manera incluso más sorprendente, los intermediarios cristalinos producen un significativo enriquecimiento quiral que supone un enorme beneficio en la producción de estereoisómeros puros partiendo de materiales racémicos más baratos o materiales de partida quiralmente menos puros. Los procesos descritos no implican ninguna fase de purificación cromatográfica ni en fase normal ni quiral en contraposición con los procedimientos de síntesis descritos en la patente internacional WO2008/113089, en la que se divulga, por ejemplo, en el ejemplo 1, Etapa B, el aislamiento de 14-O-[[[4-amino-2-hidroxi-ciclohexil]-sulfanil]-acetil]-mutilinas en forma de mezclas diastereómeras como espumas amorfas incoloras tras cromatografía de fase normal. En la patente internacional WO2008/113089, por ejemplo, en el Ejemplo 1A, se describe la obtención de diastereómeros quirales

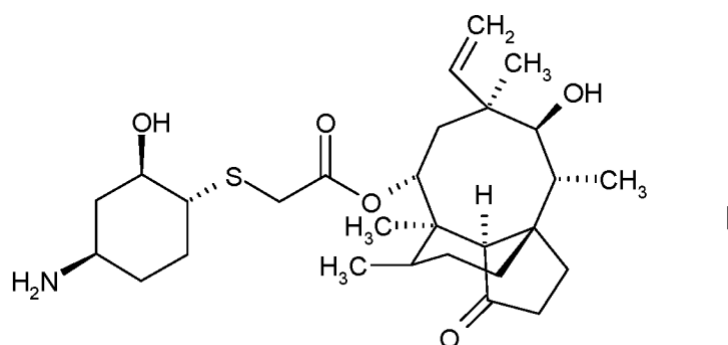
puros después de someter la mezcla a cromatografía quiral, tras lo cual se aíslan los diastereómeros puros separados en forma de espumas amorfas incoloras.

Sin embargo la cromatografía quiral no es una tecnología que se puede aplicar a gran escala industrial y, además, de acuerdo con la patente internacional WO2008/113089, no se obtuvieron sales cristalinas de 14-O-[[[4-amino-2-hidroxiciclohexil)-sulfanil]-acetil]-mutilinas.

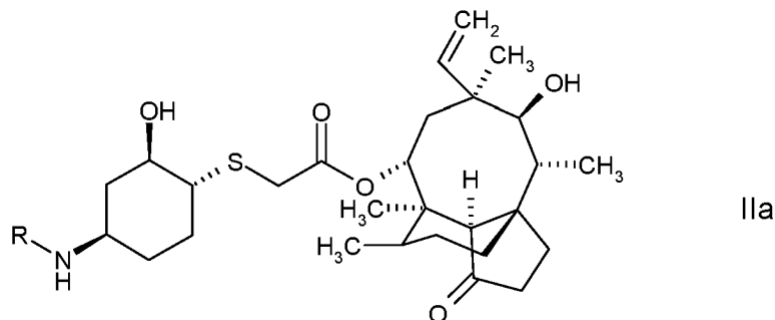
En contraposición a esto, se han descubierto las sales cristalinas farmacéuticamente aceptables de 14-O-[[[4-amino-2-hidroxiciclohexil)-sulfanil]-acetil]-mutilina que tienen sorprendentemente propiedades superiores con respecto a las sales amorfas de la técnica anterior descritas en la patente internacional WO2008/113089; por ejemplo, sorprendentemente, la estabilidad química de las sales divulgadas en el presente documento se mejora con respecto a las formas de sal amorfa; y además también las sales divulgadas en el presente documento presentan una higroscopia sorprendentemente baja.

Se han descubierto procesos para la preparación de dichas sales cristalinas, con los que se pueden obtener dichas sales en una forma estereoisomérica simple a partir de 14-O-[[[4-amino-2-hidroxiciclohexil)-sulfanil]-acetil]-mutilinas, así como procesos para la preparación de 14-O-[[[4-amino-2-hidroxiciclohexil)-sulfanil]-acetil]-mutilinas estereoisoméricamente puras en forma cristalina como base para las sales cristalinas.

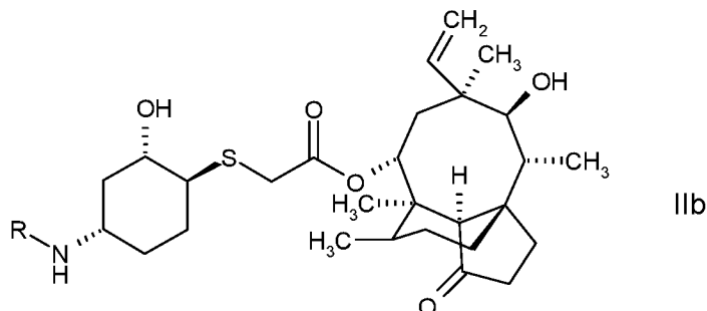
La presente invención proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I:



en forma de un estereoisómero simple en forma cristalina que comprende la desprotección del grupo amina en un compuesto de fórmula IIa



o en una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb,



en la que R es un grupo protector de amina, y el aislamiento del compuesto de fórmula I obtenido en forma de un diastereómero simple en forma cristalina directamente desde la mezcla de reacción o a través de la cristalización en un disolvente orgánico aislando el compuesto de fórmula I en forma de un solo diastereómero en forma cristalina comprende una de las siguientes etapas:

a) tratar una solución de un compuesto de fórmula I en una sola forma estereoisomérica obtenida en el disolvente orgánico polar CH₂Cl₂, con un antidisolvente seleccionado entre diisopropiléter (DIPE) o *tert*-butilmetiléter (MTBE), preferentemente DIPE

5 b) tratar una solución de un compuesto de fórmula I en una sola forma estereoisomérica obtenida en el disolvente orgánico polar CH₂Cl₂, previa concentración con un alcohol, tal como n-butanol;

10 c) recoger un material en bruto aislado de un compuesto de fórmula I en una única forma estereoisomérica, en un éter, por ejemplo, tetrahidrofurano (THF), y opcionalmente tratándolo con un antidisolvente seleccionado entre DIPE o MTBE;

d) obtener un compuesto de fórmula I en forma de un único diastereómero en forma cristalina mediante (re-)cristalización en un disolvente orgánico, siendo el disolvente orgánico un alcohol, tal como n-butanol.

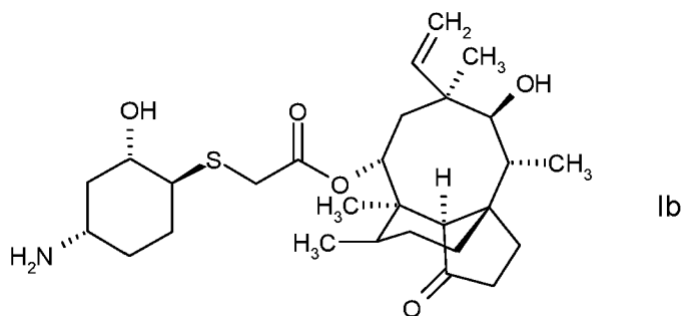
15 Las reivindicaciones dependientes establecen realizaciones preferidas.

Se divulga en el presente documento un compuesto de fórmula I, tal como se ha definido, en la forma de un estereoisómero simple en forma cristalina.

20 También se divulga en el presente documento un compuesto de fórmula IIa.

En un compuesto de fórmula I, o IIa, respectivamente, los átomos de carbono del anillo ciclohexilo al que se unen el grupo hidroxilo, el grupo amina y el grupo sulfanil-acetil-mutilina están todos ellos en la configuración R y, por tanto, el compuesto de fórmula I, o IIa, representa una 14-O-[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina

25 opcionalmente protegida con amina. En contraposición a esto, en un compuesto de fórmula Ib



30 Ib los átomos de carbono del anillo ciclohexilo al que está unido el grupo hidroxilo, el grupo amina y el grupo sulfanil-acetil-mutilina se encuentran todos ellos en la configuración S y por tanto, un compuesto de fórmula Ib representa una 14-O-[(1S,2S,4S)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina opcionalmente protegida con amina.

35 Un grupo protector amina incluye grupos protectores conocidos entre las personas especializadas y que se pueden separar con métodos ácidos, básicos, de hidrogenación, oxidativos o reductores, por ejemplo, hidrogenólisis, tratamiento con un ácido, una base, un hidruro, un sulfuro. En T. W. Greene, P. G. M. Wuts, protective Groups in Organic Synthesis, Wiley-Interscience, 4ª edición, 2007, en particular p. 696-868, se describen los grupos protectores amina apropiados.

40 Los grupos protectores amina que se pueden utilizar convenientemente en un proceso de acuerdo con la presente invención incluyen por ejemplo:

- benciloxycarbonilo (Cbz), que se puede separar por ejemplo, por hidrogenólisis,
- *p*-metoxibencil carbonilo (Moz o MeOZ), que se puede separar por ejemplo, por hidrogenólisis,
- 45 - *tert*-butiloxycarbonilo (BOC), que se puede separar por ejemplo por tratamiento con un ácido fuerte, como HCl, H₃PO₄ o CF₃COOH,
- trifluoroacetilo, que se puede separar por ejemplo por tratamiento con una base, como NaOH, K₂CO₃, Cs₂CO₃,
- 9-fluorenilmetiloxycarbonil (Fmoc), que se puede separar por ejemplo por tratamiento con una base, como piperidina,
- bencilo (Bn), que se puede separar por ejemplo, por hidrogenólisis;
- 50 - *p*-metoxibencilo (PMB), que se puede separar por ejemplo, por hidrogenólisis;
- 3,4-dimetoxibencilo (DMPM), que se puede separar por ejemplo, por hidrogenólisis;
- *p*-metoxifenilo (PMP), que se puede separar por ejemplo por tratamiento con nitrato de amonio y cerio (IV) (CAN),
- tosilo (Tos), que se puede separar por ejemplo por tratamiento con ácido concentrado como HBr, H₂SO₄ o por tratamiento con agentes de reducción fuertes, como sodio en amoníaco líquido, naftaleno de sodio,
- 55 - grupos que forman con la amina otras sulfonamidas distintas a Tos-amidas, por ejemplo, incluyendo 2-

nitrobenzenosulfonamida (nosil) u o-nitrofenilsulfenil (Nps), que se puede separar por ejemplo por tratamiento con yoduro de samario, hidruro de tributil estaño,

- bencilideno, que se puede separar por ejemplo por tratamiento con ácido trifluorometanosulfónico, ácido trifluoroacético, sulfuro de dimetilo;
- 5 - trifenilmetilo (tritilo, Tr), dimetoxitritilo (DMT), por ejemplo que se puede separar por tratamiento con un ácido, como por ejemplo, ácido trifluoroacético;

preferentemente trifluoroacetilo o *terc*-butiloxicarbonilo (BOC).

10 En el caso de trifluoroacetilo, se puede utilizar una base, por ejemplo, una base inorgánica como NaOH, KOH, Cs₂CO₃ y K₂CO₃ o una base orgánica, como etanolamina para llevar a efecto la desprotección de un compuesto de fórmula IIa y IIb para obtener un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple. En una realización preferida, se puede utilizar una base inorgánica como NaOH y K₂CO₃.

15 En el caso de *terc*-butiloxicarbonilo (BOC) se puede utilizar un ácido, por ejemplo, un ácido inorgánico, como por ejemplo un ácido mineral, o un ácido orgánico, para llevar a efecto la desprotección de un compuesto de fórmula IIa y IIb para obtener un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple. En una realización preferida, se utiliza un ácido orgánico, como ácido trifluoroacético (TFA) o un ácido mineral, como ácido orto fosfórico.

20 Alternativamente, el átomo de nitrógeno al que se une R forma un anillo heterocíclico, por ejemplo, el átomo de nitrógeno unido al grupo ciclohexilo forma parte de un anillo fatalimido, que se puede separar, por ejemplo por tratamiento con hidracina. En este caso, no está presente el hidrógeno en nitrógeno (véase ejemplo 17).

25 La desprotección del compuesto de fórmula IIa lleva al compuesto de fórmula I en forma de un producto simple. En caso de desprotección de una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb, los productos obtenidos de las fórmulas Ia e Ib se someten a cristalización/recristalización y se obtiene un compuesto de fórmula I de la mezcla.

30 Se ha descubierto que, durante la reacción de desprotección de amina, se retiene la estereoquímica de los átomos de carbono de la fracción ciclohexilo, en la que están unidos el grupo tio, hidroxilo y amino, respectivamente, como en los compuestos protegidos con amina de fórmula IIa y IIb utilizados como material de partida.

35 Sorprendentemente, se ha descubierto que un compuesto de fórmula I se puede cristalizar tras el aislamiento, o incluso directamente en la mezcla de reacción obtenida tras la desprotección del grupo amina. Por ejemplo, se trata una solución de un compuesto de fórmula I en forma estereoisomérica simple obtenido en el disolvente orgánico polara CH₂Cl₂, con un antidisolvente, seleccionado entre éter diisopropílico (DIPE) o éter *terc*-butil metílico (MTBE), preferentemente DIPE; o se trata una solución de un compuesto de fórmula I en una forma estereoisomérica simple obtenida en el disolvente orgánico CH₂Cl₂, tras la concentración con un disolvente orgánico, preferentemente, un alcohol, como *n*-butanol; o se recoge un material en bruto aislado de un compuesto de fórmula I en una forma estereoisomérica simple, en un éter, por ejemplo tetrahidrofurano (THF), y opcionalmente se trata con un antidisolvente, seleccionado entre DIPE o MTBE. Un compuesto de fórmula I en una forma estereoisomérica simple puede cristalizar y puede aislarse en forma cristalina.

45 La cristalización simplifica el aislamiento y el manejo de los materiales aislados y proporciona excelentes oportunidades para una posterior purificación del producto.

Los compuestos cristalinos obtenidos de acuerdo al proceso de la presente invención se pueden someter a posterior purificación, como recristalización, por ejemplo, en un disolvente orgánico, preferentemente un alcohol, como *n*-butanol.

50 Se puede repetir la (re)cristalización si se desea y puede tener como resultado altos rendimientos de recuperación y una purificación excelente.

55 En la TABLA 1 a continuación, se indica el potencial de purificación sorprendentemente alto del compuesto cristalino de fórmula I.

TABLA 1

Etapa de reacción	Pureza HPLC (% área) de compuesto de fórmula I	Impureza RRT 1,32 (% área)
Reacción completada tras desprotección de Ib	87,3	4,2
Tras recristalización con DCM/DIPE	95,0	2,2
Tras la 1ª cristalización con <i>n</i> -BuOH cristalización	99,0	0,6
Tras la 2ª cristalización con <i>n</i> -BuOH cristalización ³	99,7	<0,15

RRT = tiempo de retención relativa en la HPLC con respecto a I

5 Tal como se puede deducir claramente de la TABLA 1 anterior, la pureza de un compuesto de fórmula I tras la desprotección de un compuesto de fórmula Ia aumentó de 87,3 % a 95,0 % tras la cristalización y el aislamiento en DCM (CH₂Cl₂) / DIPE. Se aumenta más la pureza por (re)cristalizaciones en *n*-butanol hasta una pureza final del compuesto aislado de fórmula I de hasta 99,7 %.

10 En la TABLA 2 a continuación, se muestra el empobrecimiento de impurezas seleccionadas y la purificación global del compuesto de fórmula I recuperado a partir aguas madre de proceso tras someterlo a recristalización en *n*-butanol:

TABLA 2

	Pureza inicial (% área por HPLC)	Pureza tras recristalización en <i>n</i> -butanol (% área por HPLC)
Compuesto I	96,29	99,03
Impureza 1	0,61	0,14
Impureza 2	1,88	0,54

15 La cristalización se puede potenciar y acelerar mediante el uso de cristales de siembra. Los cristales de siembra se pueden obtener a través de los procesos que se ilustran en el presente documento. El proceso de cristalización y recristalización de un compuesto de fórmula I suministra la pureza deseada y es muy útil a escala industrial. Se esquila la purificación por cromatografía, complicada y cara, y se consigue que el proceso sea aplicable a nivel industrial.

20 Más sorprendentemente aún, la cristalización del compuesto I lleva a una clara potenciación diastereomérica en favor de un compuesto de fórmula I cuando se parte de una mezcla de un compuesto de fórmula I con un compuesto de fórmula Ib. Tras la desprotección de la mezcla de un compuesto de fórmula Ia con un compuesto de fórmula Ib y la cristalización del sólido resultante en disolventes orgánicos o mezclas de disolvente como DCM/DIPE se consigue una potenciación diastereomérica significativa. La potenciación diastereomérica es incluso más pronunciada si se realiza la recristalización en un disolvente orgánico, preferentemente, un alcohol como *n*-butanol.

25

En la siguiente TABLA 3, se indica el enriquecimiento quiral de un compuesto de fórmula I en forma cristalina.

TABLA 3

	Pureza quiral determinada por HPLC quiral (área %)	
	14-O-[(1 <i>R</i> ,2 <i>R</i> ,4 <i>R</i>)-4-amino-2-hidroxíciclohexilsulfanil]-acetil)-mutilina (compuesto I)	14-O-[(1 <i>S</i> ,2 <i>S</i> ,4 <i>S</i>)-4-amino-2-hidroxíciclohexilsulfanil]-acetil)-mutilina (compuesto Ib)
Cristalización en DCM/DIPE	59	41
Cristalización en <i>n</i> -butanol	93	7
Aguas madre	16	84

30 Se puede deducir de la TABLA 3 que partir de la mezcla diastereomérica de los compuestos de fórmulas Ia y Ib en la etapa de desprotección y el aislamiento de los productos resultantes desde la mezcla de reacción en DCM/DIPE la cristalización produce un sorprendente enriquecimiento quiral de 59 : 41 en favor de un compuesto de fórmula I. El hecho de someter a recristalización en *n*-butanol la mezcla de producto enriquecida resultante de un compuesto de fórmula I y un compuesto de fórmula Ib tiene como resultado un enriquecimiento masivo e incluso más sorprendente a favor de un compuesto de fórmula I en el producto aislado (93: 7). En contraposición al producto aislado del compuesto enriquecido de fórmula I, las aguas madre de *n*-butanol contienen prácticamente exclusivamente un compuesto de fórmula Ib (84 %).

35

Opcionalmente, es posible repetir la recristalización hasta conseguir una pureza óptica deseada.

40

Las propiedades sorprendentes de un compuesto de fórmula I en forma cristalina que se presentan en las TABLAS 1, 2 y 3 son enormemente útiles en la preparación de compuestos farmacéuticos.

Se divulga en el presente documento un compuesto de fórmula I en forma estereoisomérica simple en forma cristalina.

Sorprendentemente, se han aislado dos formas cristalinas diferentes de un compuesto de fórmula I y caracterizado por difracción de rayos X de polvo.

5 Se divulga en el presente documento 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina en forma cristalina 1, por ejemplo forma cristalina 1 que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos 2- theta en (grados, $\pm 0,2$, entre otros):

10 10,6, 11,1, 12,0, 14,3, 15,1, 16,1, 21,1; como:
10,6, 11,1, 12,0, 14,3, 15,1, 16,1, 18,2, 19,2, 20,7, 21,1, 21,3, 21,8, 22,6, 23,5, 24,7, 28,2, 30,2.

Se divulga en el presente documento 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina en forma cristalina 2, obtenida como un solvato en *n*-butanol 1:1, por ejemplo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos 2-theta en (grados, $\pm 0,2$, entre otros):
15 9,8, 11,1, 13,1, 14,1, 17,6, 19,7, 22,2; como
9,6, 9,8, 11,1, 13,1, 14,1, 16,0, 17,6, 19,7, 22,2; 22,7, 23,0.

El contenido en *n*-butanol de 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina en la forma cristalina 2 oscila entre 10 y 18 % p/p, normalmente entre 11 y 14 % p/p.

Un compuesto de fórmula I está preferentemente aislado en forma de una sal, como por ejemplo una sal farmacéuticamente aceptable. Dichas sales son preferentemente sales de amonio, en concreto sales de adición de ácido del grupo amina unidas al anillo ciclohexilo, e incluyen acetatos, lactatos, por ejemplo, L-lactatos o maleatos, por ejemplo, hidrogenomaleatos.

Se divulga en el presente documento un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple en forma de una sal, por ejemplo, una sal cristalina, en la que un compuesto de fórmula I se encuentra en forma de un estereoisómero simple; la sal es preferentemente un acetato, lactato, por ejemplo L-lactato o maleato, por ejemplo hidrogenomaleato.

Los compuestos cristalinos obtenidos de acuerdo con el proceso de la presente invención en una forma estereoisomérica simple de fórmula I, por ejemplo en forma de una sal, son útiles en una composición farmacéutica.

35 Se divulga en el presente documento una composición farmacéutica que comprende 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexil}]\text{sulfanil}\}$ acetil}mutilina cristalina, o que comprende un acetato, lactato o hidrogenomaleato de 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexil}]\text{sulfanil}\}$ acetil}mutilina opcionalmente cristalino como principio activo, en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

40 Los compuestos de fórmula I en forma libre y en forma estereoisomérica simple así obtenidos se pueden convertir a una sal por adición de un ácido a la base libre de un compuesto de fórmula I. Por ejemplo, se puede disolver o suspender un compuesto de fórmula I, u obtenerse en forma disuelta o suspendida, en un disolvente orgánico, preferentemente un disolvente o mezcla de disolventes, como por ejemplo un alcohol, por ejemplo metanol, etanol; un hidrocarburo halogenado, por ejemplo diclorometano; un éter, por ejemplo tetrahidrofurano, un acetato, como acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de propilo, acetato de isopropilo; una mezcla de disolventes de alcohol con acetato, como metanol/ acetato de isopropilo, una mezcla de disolventes de hidrocarburo halogenado con acetato, como diclorometano/ acetato de isopropilo, una mezcla de disolventes de éter con acetato, como tetrahidrofurano/ acetato de isopropilo, y se añade a la mezcla obtenida un ácido, por ejemplo un ácido orgánico o un ácido inorgánico (mineral), por ejemplo ácido acético, ácido láctico, por ejemplo ácido L-láctico, ácido maleico. Se puede obtener y aislarse un compuesto de fórmula I, en forma de una sal, por ejemplo sal cristalina.

Se ha descubierto que en la etapa de formación de sal, se retiene la estereoquímica de los átomos de carbono del anillo ciclohexilo al que se une un grupo tio, hidroxi o amino, y permanece igual que en un compuesto de fórmula I en forma libre .

55 El aislamiento de los compuestos farmacéuticamente activos descritos en la patente internacional WO2008/113089, ejemplo I y la, respectivamente, es ventajoso, pero el aislamiento de acuerdo con el proceso de la presente invención en forma de sal cristalina, como un compuesto de fórmula I en forma de sal cristalina, es aún más ventajoso. Por ejemplo, es enormemente importante y útil una mejor pureza y una estabilidad sorprendentemente mejorada de la sal cristalina divulgada en el presente documento para la preparación de composiciones farmacéuticas destinadas a uso veterinario o humano. Las sales cristalinas de un compuesto de fórmula I han demostrado tener una mejor estabilidad con respecto a las formas amorfas correspondientes y se aíslan con una pureza química y quirál de ≥ 90 %, por ejemplo incluso ≥ 95 %.

65 En la TABLA 4 a continuación, se muestran los datos comparativos de estabilidad de las sales cristalina y amorfa correspondientes.

TABLA 4

	Área % de 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina (compuesto I) por HPLC almacenado a 60 °C					
	acetato (Forma b)	acetato	L-Lactato	L-Lactato	Maleato de hidrógeno	Maleato de hidrógeno
	<i>crystalina</i>	<i>amorfa</i>	<i>crystalina</i>	<i>amorfa</i>	<i>crystalina</i>	<i>crystalina</i>
Inicial	99,5	99,3	99,4	99,5	99,7	99,6
28 d	98,9	96,3*	98,3	96,3	98,7	70,9*

* la muestra no se disolvió completamente en agua al cabo de 28 días (28 d) y por tanto se analizó la suspensión.

- 5 La solubilidad de los compuestos activos farmacéuticos es una importante propiedad para disponibilidad *in vivo* por ejemplo, biodisponibilidad oral. Para la aplicación intravenosa, la solubilidad de la forma seleccionada, por ejemplo, sal es también crucial y es deseable para contar con formulaciones sin tecnologías sofisticadas o excipientes. La solubilidad de las sales acetato, lactato e (hidrogeno)maleato cristalinas en agua y vehículos acuosos como solución NaCl al 0,9 % o en medios biológicamente pertinentes como fluido intestinal simulado en estado de ayunas (FaSSIF por sus siglas en inglés) y fluido intestinal simulado en estado alimentado (FeSSIF) es sorprendentemente alto, lo que hace que las sales cristalinas sean incluso más viables farmacéuticamente.

- 15 En la patente internacional WO2008/113089, se señala la actividad antimicrobiana, por ejemplo, antibacteriana, de 14-O- $\{[(4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexil})\text{-sulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilinas. Por ejemplo, el compuesto de fórmula I presenta actividad antimicrobiana, por ejemplo antibacteriana contra bacterias Gram-positivas, como estafilococos coagulasa positivos, por ejemplo *Staphylococcus aureus*, y estreptococos, por ejemplo *Streptococcus pneumoniae*, por ejemplo que presentan MIC < 0,4 µg/ml contra *Staphylococcus aureus* ATCC49951 y *Streptococcus pneumoniae* ATCC49619. La concentración mínima inhibitoria (MIC) de acuerdo con las recomendaciones de CLSI.

- 20 Se divulga en el presente documento 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina cristalina en forma de un acetato en forma cristalina A, por ejemplo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos 2-theta en (grados, ± 0,2, entre otros):

- 25 7,0, 7,7, 11,6, 12,1, 12,6, 13,5, 13,7, 15,4, 15,7, 16,9, 17,3, 19,0, 19,9, 21,1, 23,4, 24,2, 24,4; como 7,0, 7,7, 11,6, 12,1, 12,6, 13,5, 13,7, 14,1, 15,4, 15,7, 16,5, 16,9, 17,3, 19,0, 19,6, 19,9, 20,1, 21,1, 22,2, 22,5, 23,4, 24,2, 24,4, 26,7, 29,1, 29,6, 31,0.

- 30 Se divulga en el presente documento 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina cristalina en forma de un acetato en la forma cristalina B, por ejemplo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos 2-theta en (grados, ±0,2, entre otros):

10,3, 10,7, 12,7, 14,3, 15,5, 16,0, 17,2, 19,5, 20,6, 22,9; como 9,0, 10,3, 10,7, 12,7, 14,3, 15,5, 16,0, 17,2, 19,5, 20,6, 21,7, 22,3, 22,7, 22,9, 24,4.

- 35 Se divulga en el presente documento 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina cristalina en forma de un L-lactato en forma cristalina 1, por ejemplo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos 2-theta en (grados, ± 0,2, entre otros):

- 40 7,0, 11,6, 12,0, 12,5, 13,4, 13,6, 13,9, 15,3, 16,8, 18,8, 19,5, 19,8, 20,9, 23,3, 23,9, 24,2; como 7,0, 7,6, 11,6, 12,0, 12,5, 13,4, 13,6, 13,9, 15,3, 15,5, 16,8, 17,2, 18,8, 19,5, 19,8, 20,0, 20,9, 22,0, 22,4, 22,7, 23,3, 23,9, 24,2; 25,3, 28,9, 29,4, 30,8

- 45 Se divulga en el presente documento 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina cristalina en forma de un hidrogenomaleato en forma cristalina 1, por ejemplo que se caracteriza por un patrón de difracción de rayos X en polvo con picos 2-theta en (grados, ± 0,2, entre otros):

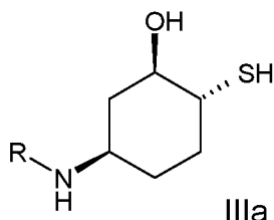
7,0, 11,3, 11,7, 12,5, 13,5, 13,8, 15,3, 16,7, 18,3, 19,4, 19,7, 21,1, 22,2, 23,8, 23,9; como 7,0, 11,3, 11,7, 12,5, 13,3, 13,5, 13,8, 14,1, 15,3, 16,7, 17,2, 18,0, 18,3, 19,4, 19,7, 20,4, 21,1, 21,9, 22,2, 22,8, 23,8, 23,9, 24,9, 27,1, 27,8, 28,7, 29,3, 30,6, 30,8.

- 50 Un compuesto de fórmula I en forma de una base libre (cristalina) presenta el mismo orden de actividad farmacéutica, como por ejemplo actividad antimicrobiana, que un compuesto de fórmula I, en forma de una sal (cristalina).

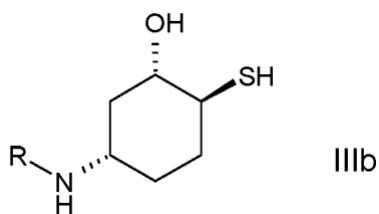
- 55 Un compuesto de fórmula IIa en forma de un estereoisómero simple o la mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb se puede preparar según sea apropiado, por ejemplo, de acuerdo, por ejemplo, análogamente con un método según lo convencional. Preferentemente, se prepara un compuesto de fórmula IIa en forma de un estereoisómero simple o la mezcla del compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb por acoplamiento de un compuesto amino-hidroxi-mercapto-ciclohexano de fórmula IIIa, o una mezcla de un compuesto

de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, en el que el grupo amina está protegido con un grupo protector de amino con una 14-O-acetil-mutilina activada.

- 5 En una realización preferida, la presente invención proporciona un proceso de acuerdo con la presente invención, en el que se obtiene un compuesto de fórmula IIa, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb mediante el acoplamiento o bien de un compuesto de fórmula IIIa

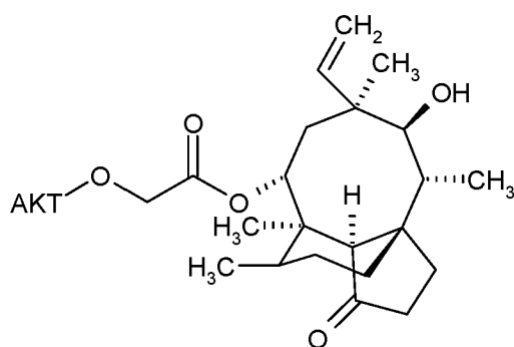


- 10 o bien una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb:

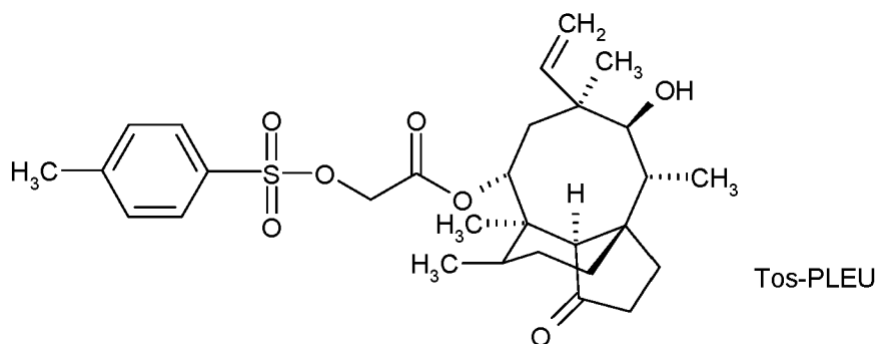


respectivamente,

- 15 en la que R es como se ha definido, con una 14-O-AKT-acetil-mutilina activada de fórmula



- 20 en la que AKT es un grupo activador, opcionalmente mesilo, besilo, tosilo u -O-AKT es halógeno; opcionalmente 14-O-AKT-acetil-mutilina es un compuesto de fórmula



- 25 y el aislamiento de un compuesto de fórmula IIa o una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb obtenido desde la mezcla de reacción.

Se divulga un compuesto de fórmula IIIa en una forma estereoisomérica simple.

En un compuesto de fórmula IIIa, los átomos de carbono del anillo ciclohexilo al que están unidos el grupo hidroxilo, el grupo amina y el grupo tio están todos ellos en la configuración R y, por lo tanto, un compuesto de fórmula IIIa representa un (1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-1-mercapto-ciclohexano opcionalmente protegido con amino; y en un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, los átomos de carbono del anillo ciclohexilo al que están unidos el grupo hidroxilo, el grupo amina y el grupo tio están todos ellos en la configuración S y, por tanto, un compuesto de fórmula IIIb representa un (1S,2S,4S)-4-amino-2-hidroxi-1-mercapto-ciclohexano opcionalmente protegido con amino.

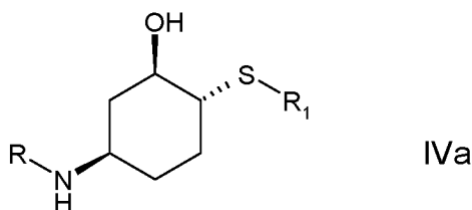
La reacción de acoplamiento de un compuesto de fórmula IIIa o la mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, en la que R es como se ha definido con una 14-O-AKT-acetil-mutilina activada, en la que AKT es como se ha definido, para obtener un compuesto de fórmula IIa o una mezcla de IIa y IIb, en las que R es como se ha definido se puede llevar a cabo de forma apropiada, por ejemplo, de acuerdo, por ejemplo, análogamente a un método convencional, en las condiciones normales conocidas para dichas reacciones, por ejemplo, en presencia de una base, por ejemplo, una base inorgánica fuerte, como un hidróxido, como NaOH, por ejemplo, en un sistema de dos fases y, si se lleva cabo la reacción en un sistema de dos fases, preferentemente, en presencia de un catalizador, como pueda ser un catalizador de transferencia de fase, por ejemplo, cloruro de bencil-tri-butilamonio. La reacción de acoplamiento se puede llevar a cabo también en un sistema de un solo disolvente, por ejemplo, en un disolvente orgánico, como por ejemplo un hidrocarburo halogenado, por ejemplo, clorobenceno, diclorometano, un disolvente aromático como tolueno, un nitrilo como acetonitrilo o un éter, por ejemplo éter *tert*-butil-metilico, tetrahidrofurano, en presencia de una base, preferentemente una base orgánica, como DBU.

Preferentemente la reacción de acoplamiento se lleva a cabo en un disolvente orgánico, por ejemplo un disolvente apolar, como un éter, por ejemplo éter *tert*-butil metílico (MTBE) o un disolvente polar, como un hidrocarburo halogenado, por ejemplo diclorometano; preferentemente en presencia de una solución básica acuosa, como NaOH acuoso; o en presencia de una base en el disolvente orgánico, como DBU, DNB, preferentemente, en presencia de un catalizador de transferencia de fase en caso de usar una solución básica acuosa, como cloruro de bencil-tri-butilamonio.

Se ha observado que durante la reacción de acoplamiento, se retiene la estereoquímica de los átomos de carbono de la fracción ciclohexilo a la que se unen el grupo tio, hidroxilo y amino y permanece igual que en el compuesto de fórmula IIIa y un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, utilizado como material de partida.

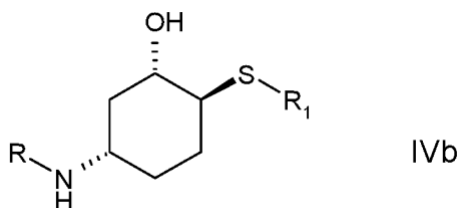
Un compuesto de fórmula IIIa en forma de un estereoisómero simple o la mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, se pueden preparar según lo apropiado, por ejemplo, de acuerdo, por ejemplo de forma análoga a un método según lo convencional. Preferentemente un compuesto de fórmula IIIa o la mezcla de compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, se preparan por desprotección de la función tiol en un amino-hidroxi-mercapto ciclohexano, en el que el grupo amina y el grupo tiol están protegidos.

En una realización preferida, la presente invención proporciona un proceso de acuerdo con la presente invención, en el que se obtiene un compuesto de fórmula IIIa, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, por desprotección de la función tiol o bien en un compuesto de fórmula IVa



o bien

en una mezcla de compuesto IVa con un compuesto de fórmula IVb



, respectivamente,

en la que R es como se ha definido y R₁ es un grupo protector tiol, y el aislamiento de un compuesto de fórmula IIIa, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa, con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, obtenido desde la mezcla de reacción.

Un grupo protector tiol, por ejemplo en el significado de R₁ en un compuesto de fórmulas IVa y IVb, incluye por ejemplo

- alquilo (C₁₋₆), en el que alquilo está además sustituido opcionalmente, por ejemplo está sustituido además con arilo (C₆₋₁₂) como fenilo, como un tritilo; por ejemplo que se puede separar con ácido fuerte o tratamiento con AgNO₃,
- alquilcarbonilo (C₁₋₆), por ejemplo acetilo, por ejemplo que se puede separar con una base, como por ejemplo tratamiento con metóxido sódico
- arilcarbonilo (C₁₋₁₂), como un benzoílo, por ejemplo que se puede separar por tratamiento con un agente de reducción, como DIBAL, o por tratamiento con a base, como hidracina, preferentemente -C(=O)-arilo (C₆₋₁₂); más preferentemente benzoílo.

En T. W. Greene, P. G. M. Wuts, Protective Groups in organic Synthesis, Wiley-Interscience, 4ª edición, 2007, en particular p. 647-695, se describen grupos protectores de azufre apropiados.

En un compuesto de fórmula IVa los átomos de carbono del anillo de ciclohexilo al que se unen el grupo hidroxilo, el grupo amina y el grupo tio están todos ellos en la configuración R y por tanto un compuesto de fórmula IVa representa un (1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxilo-1-mercapto-ciclohexano protegido con amina y tio; y en un compuesto de fórmula IVb los átomos de carbono del anillo de ciclohexilo al que están unidos el grupo hidroxilo, el grupo amina y el grupo tio están todos ellos en la configuración S y, por tanto, un compuesto de fórmula IVb representa un (1S,2S,4S)-4-amino-2-hidroxilo-1-mercapto-ciclohexano protegido con amino y tio.

Se ha observado que durante la reacción de desprotección de tiol, se retiene la estereoquímica de los átomos de carbono de la fracción ciclohexilo al que se une el grupo tio, hidroxilo y amino permanece igual que en un compuesto de fórmula IVa y en un compuesto de fórmula IVb, respectivamente, utilizados como materiales de partida.

La desprotección del grupo tiol se lleva a cabo según lo apropiado, por ejemplo, mediante el uso de un agente de escisión, por ejemplo, hidrato de hidracina. La reacción de desprotección se lleva a cabo en un disolvente orgánico, como por ejemplo un hidrocarburo halogenado, por ejemplo clorobenceno, diclorometano, un disolvente aromático, como tolueno, un nitrilo como acetonitrilo o un éter, por ejemplo éter *terc*-butilmetílico, tetrahidrofurano. Para reducir al mínimo la formación de disulfuro, opcionalmente se lleva a cabo la desprotección en presencia de un agente antioxidante o reductor, por ejemplo, ditioneol (DTT).

Se puede obtener un compuesto de fórmula IVa o una mezcla de un compuesto de fórmula IVa con un compuesto de fórmula IVb, respectivamente, según sea apropiado, por ejemplo de manera análoga a un método según lo convencional o tal como se describe en el presente documento, por ejemplo en la parte de los ejemplos.

También se divulga en el presente documento

- un proceso para la producción de un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple, que comprende el uso de un compuesto de fórmula IIa en forma de un estereoisómero simple, o una mezcla de compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb, respectivamente, y/o que comprende el uso de un compuesto de fórmula IIIa en forma de un estereoisómero simple, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, y/o el uso de un compuesto de fórmula IVa en forma de un estereoisómero simple, o una mezcla de un compuesto de fórmula IVa con un compuesto de fórmula IVb, respectivamente, como producto intermedio, y
- un compuesto de fórmula IIa en forma de un estereoisómero simple, y/o un compuesto de fórmula IIIa en forma de un estereoisómero simple, y/o un compuesto de fórmula IVa en forma de un estereoisómero simple para su uso como un producto intermedio en un proceso para la producción de un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple.

Se divulga en el presente documento un proceso para la producción de un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple, que comprende el acoplamiento de un compuesto de fórmula IIIa en forma de un estereoisómero simple, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, en la que R es como se ha definido, con una 14-O-AKT-acetil-mutilina activada, en la que AKT es un grupo activador, como por ejemplo un grupo mesilo, besilo o tosilo, o -O-AKT es halógeno, preferentemente AKT es un grupo tosilo,

por ejemplo un compuesto de fórmula Tos-PLEU, para obtener un compuesto de fórmula IIa o una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb, respectivamente, en la que R es como se ha definido,

opcionalmente, el aislamiento de un compuesto de fórmula IIa en forma de un estereoisómero simple, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb, respectivamente, en la que R es como se ha definido, obtenido desde la mezcla de reacción,

la desprotección de la función amina en un compuesto de fórmula IIa en forma de un estereoisómero simple, una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb, respectivamente, en la que R es como se ha definido, obtenido, y

el aislamiento de un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple, opcionalmente, en forma de una sal; a partir de la mezcla de reacción, opcionalmente por recristalización, y, si se desea, conversión de un compuesto de fórmula I en forma de un estereoisómero simple obtenido en forma libre en un compuesto de fórmula I en forma de sal en forma de un estereoisómero simple, o *vice versa*;

5 en el que, opcionalmente, se obtiene un compuesto de fórmula IIIa en forma de un estereoisómero simple o una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente, en la que R es como se ha definido, por desprotección de la función tiol en un compuesto de fórmula IVa en forma de un estereoisómero simple, 10 o en una mezcla de un compuesto de fórmula IVa con un compuesto de fórmula IVb, en la que R y R₁ son como se han definido.

Como grupo protector de amina en un compuesto de fórmula IIa, IIb, IIIa, IIIb, IVa o IVb se pueden utilizar grupos protectores amino convencionales, preferentemente, un grupo trifluoroacetilo o terc-butoxicarbonilo. Si es apropiado, se puede cambiar el grupo protector de amina R en un compuesto de fórmula IIa, IIb, IIIa, IIIb, IVa o IVb, de una 15 manera en la que no cambie su configuración el átomo de carbono del anillo ciclohexilo al que está unido el grupo amina, es decir que no cambie su estereoquímica, por ejemplo a través de la desprotección del grupo amina, seguido de la protección con un grupo protector de amina diferente.

El proceso de la presente invención permite el aislamiento de compuestos de fórmula I en forma de un estereoisómero simple en forma cristalina. Por otra parte, el proceso sirve para controlar la estereoquímica, cuando se parte de 20 materiales de partida quirales puros y da lugar a productos en forma de estereoisómeros simples en virtud de lo cual no son necesarios métodos sofisticados, como cromatografía, por ejemplo, en fase normal o en fase quiral, por ejemplo, HPLC quiral, para separar las mezclas de diastereómeros y regioisómeros, por ejemplo, tal como se describe en la patente internacional WO 2008/113089, lo que constituye una gran ventaja en lo que se refiere a un proceso 25 aplicable a escala industrial. El descubrimiento del compuesto cristalino de fórmula I es clave y permite el perfecto control de la pureza química. En combinación con los rendimientos de las formas cristalinas del compuesto de fórmula I deseables observados, el proceso de la presente invención es enormemente viable para la producción de un producto farmacéutico en el que es deseable un rendimiento decente/bueno desde el punto de vista económico y en el que el control de la pureza es esencial para la calidad final del principio activo farmacéutico (API).

30 Por otra parte, el proceso de acuerdo con la presente invención sirve para controlar de forma incluso más sorprendente la pureza quiral de un compuesto de fórmula I a través de las sorprendentes propiedades del compuesto cristalino I. Las sorprendentes propiedades del compuesto cristalino I permiten partir de mezclas diastereoméricas mucho menos caras. La pureza quiral se controla en el compuesto cristalino I en virtud de lo cual, se aísla el compuesto I en forma 35 de un sólido cristalino y se empobrecen las aguas madre de diastereómeros no deseados.

En la patente internacional WO 2008/113089 no se describe en absoluto la existencia de un compuesto de fórmula I en forma cristalina. En el ejemplo 1 Etapa B de la patente internacional WO 2008/113089 se aísla como espumas amorfas la mezcla de 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-}2\text{-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina (en el presente 40 documento compuesto I) y 14-O- $\{[(1S,2S,4S)\text{-}4\text{-amino-}2\text{-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina. En el Ejemplo 1A de la patente internacional WO 2008/113089 se describe la separación de los diastereómeros por cromatografía quiral y también se aíslan como espumas amorfas la 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-}2\text{-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina separada (en el presente documento compuesto I) y 14-O- $\{[(1S,2S,4S)\text{-}4\text{-amino-}2\text{-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina (en el presente documento compuesto Ib).

45 Las sorprendentes propiedades de los compuestos cristalinos I para controlar la pureza química y quiral del compuesto I son enormemente valiosas para la producción de un compuesto farmacéuticamente activo para su administración a seres humanos y animales.

50 Se divulga además en el presente documento formas cristalinas de 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-}2\text{-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina en forma de un acetato, L-lactato o hidrogenomaleato. 14-O- $\{[(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-amino-}2\text{-hidroxi-ciclohexilsulfanil}]\text{-acetil}\}$ -mutilina se puede convertir en una forma de sal cristalina aplicando un proceso de cristalización en un medio orgánico con el agente de formación de sal. El proceso para la producción de las sales sal cristalinas se puede potenciar y acelerar mediante el uso de cristales de siembra. Los cristales de siembra se pueden 55 obtener a través de los procesos ilustrados.

Se ha descubierto que las sales cristalinas retienen la estereoquímica de un compuesto de fórmula I en forma libre en forma de un estereoisómero simple. Las sales cristalinas tienen unas claras ventajas inesperadas, es decir, una mejor 60 estabilidad con respecto a las formas amorfas de sal correspondientes, por ejemplo tal como se puede deducir de la TABLA 4.

Asimismo, y de manera bastante sorprendente, la higroscopia de las sales cristalinas, tales como sal L-lactato y acetato en la forma cristalina B es reducida entre niveles de humedad pertinentes, es decir, a 0-80 % de humedad relativa con una absorción de agua por debajo de 2 % lo que, en combinación con la excelente estabilidad química, hace que estas 65 sales sean farmacéuticamente viables.

Las sales cristalinas de una pureza química y quiral sólida tienen una mejor estabilidad en comparación con las formas liofilizadas amorfas, algo ventajoso en el almacenamiento y preparación de composiciones farmacéuticas. En la patente internacional WO 2008/113089 por ejemplo, no se ha descrito ninguna forma cristalina de un compuesto de fórmula I.

5 En suma, las formas de sal cristalina de un compuesto de fórmula I tienen purezas excelentes y la estabilidad observada no solamente fue superior a la de las formas de sales amorfas, sino que también resultó ser absolutamente farmacéuticamente viable dentro del intervalo de condiciones de almacenamiento normales.

10 "En forma de un estereoisómero simple" tal como se utiliza en el presente documento, designa una forma en la que el compuesto presenta un exceso diastereomérico o enantiomérico de ≥ 90 % de la estereoquímica indicada.

Los compuestos divulgados en el presente documento incluyen los compuestos de los Ejemplos 1 a 17, por ejemplo un compuesto seleccionado del grupo que consiste en

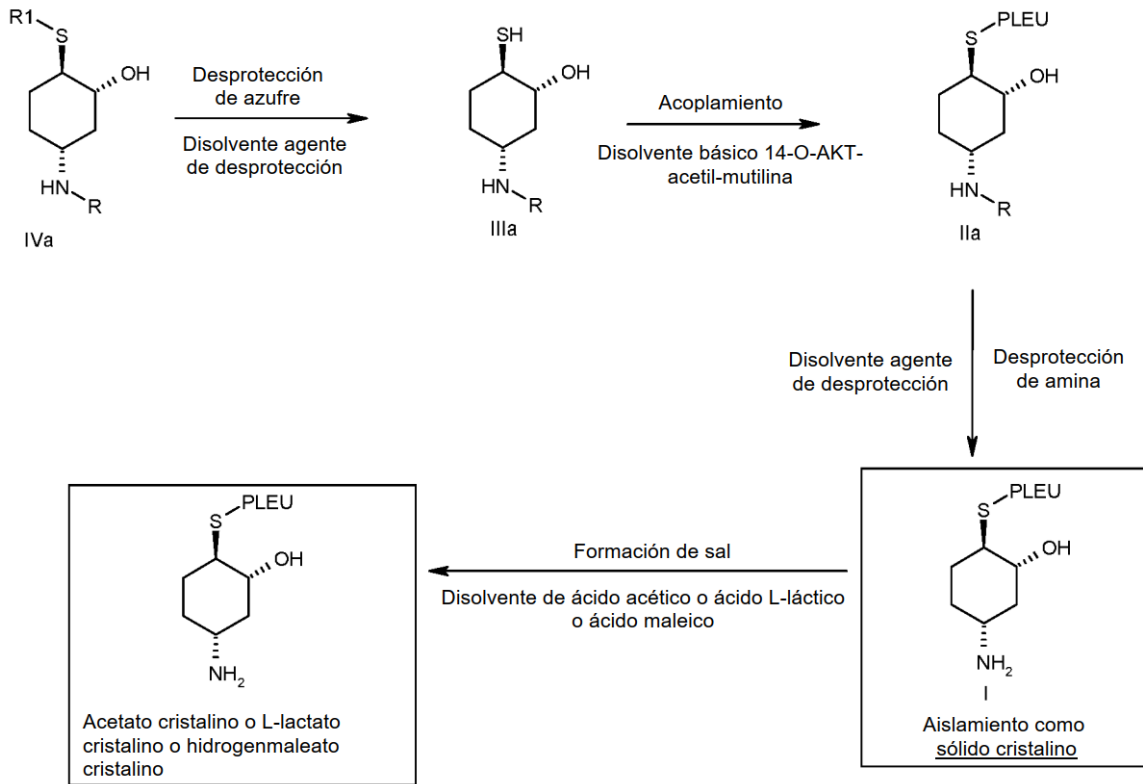
15 carbamato de *terc*-butil [(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo],
 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-*terc*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil}-mutilina,
 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina, forma cristalina 1,
 20 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina, forma cristalina 2,
 2,2,2-trifluoro-*N*-[(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexil]-acetamida,
 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(2,2,2-trifluoro-acetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil}-mutilina,
 Acetato de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil}-mutilina, forma cristalina A,
 Acetato de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil}-mutilina, forma cristalina B,
 L-lactato de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina, forma cristalina 1,
 25 Hidrogenomaleato de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina, en forma cristalina 1,
 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-etoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil}-mutilina, y
 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-2-hidroxi-4-(ftalimido-*N*-il)-ciclohexil-sulfanil]-acetil}-mutilina.

Descripción de las figuras

30 En la Fig. 1 se muestra el difractograma de polvo de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina, forma 1
 En la Fig. 2 se muestra el difractograma de polvo de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina, forma 2.
 35 En la Fig. 3 se muestra el difractograma de polvo de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina en forma de acetato, Forma A.
 En la Fig. 4 se muestra el difractograma de polvo de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina en forma de acetato, Forma B.
 En la Fig. 5 se muestra el difractograma de polvo de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina en forma de L-lactato, Forma 1.
 40 En la Fig. 6 se muestra el difractograma de polvo de 14-*O*-{[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil}-mutilina en forma de hidrogenomaleato, Forma 1.

45 El proceso para la síntesis de un compuesto de fórmula I partiendo de los precursores quirales IIa, IIIa y IVa se resume en el ESQUEMA DE REACCIÓN I a continuación,

ESQUEMA DE REACCIÓN 1

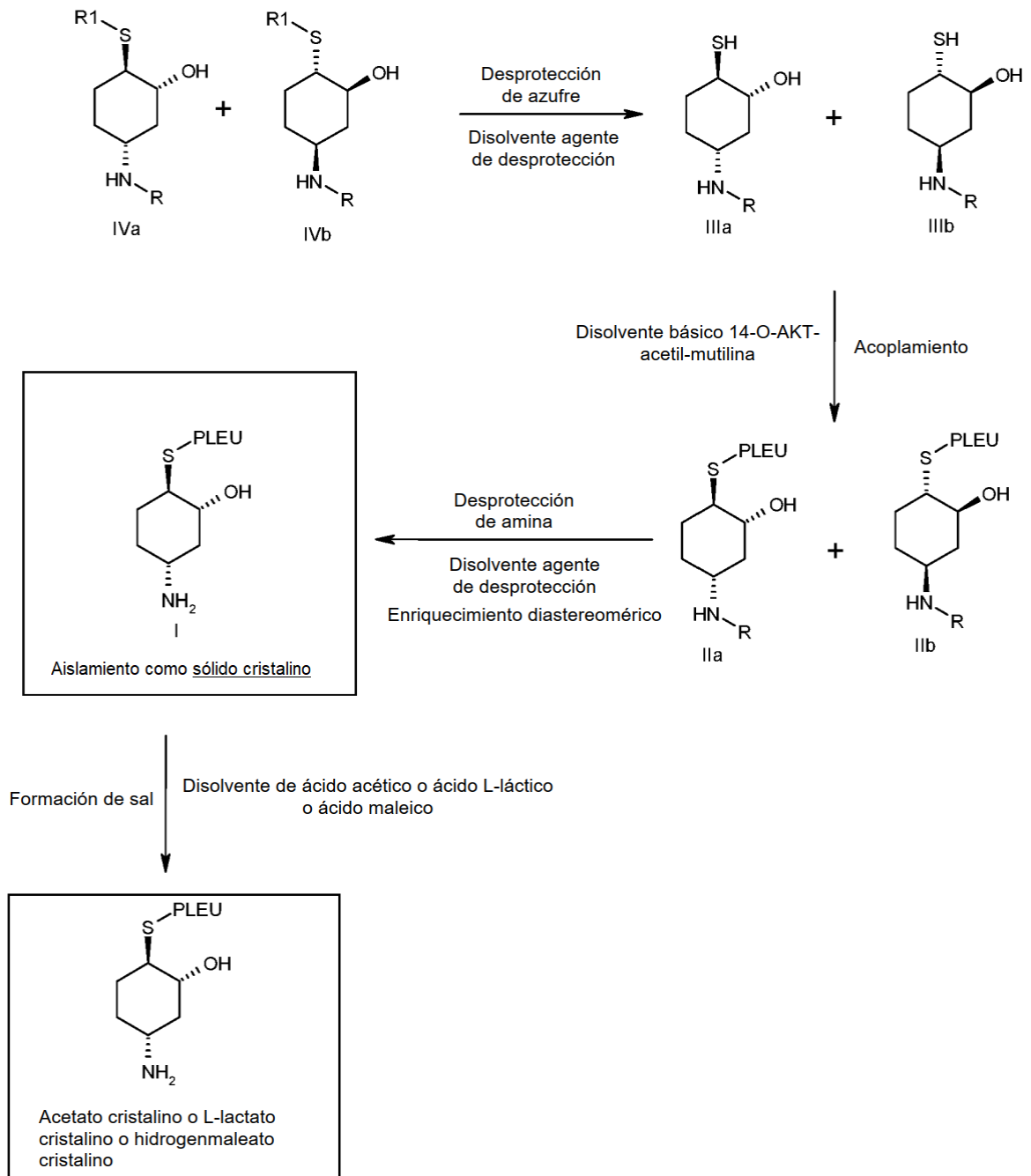


5 En el ESQUEMA DE REACCIÓN 1, R representa un grupo protector amino y R₁ representa un grupo protector azufre y son tal como se ha definido.

El proceso para la síntesis de un compuesto de fórmula I partiendo de las mezclas de IIa con IIb, IIIa con IIIb y IVa con IVb se resume en el ESQUEMA DE REACCIÓN 2 a continuación:

10

ESQUEMA DE REACCIÓN 2



5 En el ESQUEMA DE REACCIÓN 2, R representa un grupo protector amino y R₁ representa un grupo protector azufre (R y R₁ son como se han definido).

A lo largo del presente documento, incluyendo los ejemplos e incluyendo los ESQUEMAS DE REACCIÓN 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se utilizan las siguientes abreviaturas:

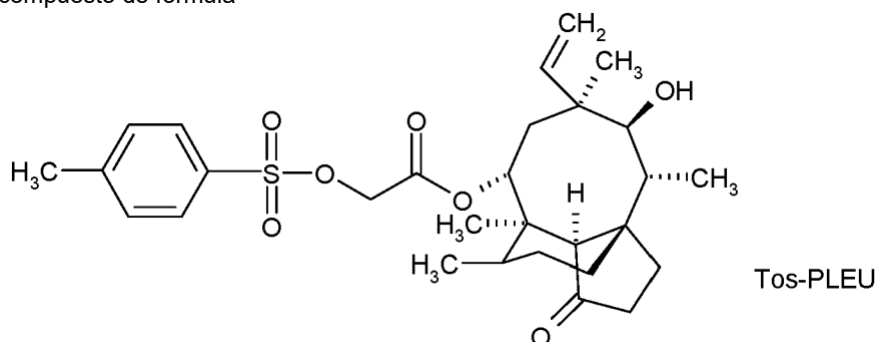
- | | | |
|----|-----------------------|---|
| 10 | °C | grados Celsius |
| | ¹ H RMN | espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón |
| | ¹³ C RMN | espectroscopia de resonancia magnética nuclear de carbono |
| | [α] _D | ángulo de rotación óptica específica a 589 nm |
| | BnBu ₃ NCl | cloruro de benciltributilamonio |
| 15 | BOC | <i>terc</i> -butoxicarbonilo |
| | d | días |
| | DCM | CH ₂ Cl ₂ |
| | DIBAL | hidruro de diisobutilaluminio |

	DBN	1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno
	DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
	DIPE	éter diisopropílico
	DMF	N,N-dimetilformamida
5	DEMO	dimetilsulfóxido
	DMTF	dimetiltioformamida
	DPPA	difenilfosforil azida
	DTT	1,4-ditio-DL-treitol
	ESI	ionización por electronebulización
10	EtOAc	acetato de etilo
	FV	fibra de vidrio
	h	horas
	heptano	<i>n</i> -heptano
	HPLC	cromatografía de líquidos de alto rendimiento
15	KF	Karl Fischer
	M	molaridad
	mCPBA	ácido metacloroperoxibenzoico
	MTBE	éter metil terc-butílico
	min	minutos
20	EM	Espectrometría de masas
	m/z	relación masa/carga
	t-BuOH	alcohol terc-butílico
	Bu ₄ NCl	cloruro de tetra- <i>n</i> -butilamonio
	PhCOSH	ácido tiobenzoico
25	ta	temperatura ambiente
	TLC	cromatografía de capa fina
	TEA, Et ₃ N	triethylamina
	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
30	P	peso
	p/p	peso/peso
	XRPD	Difracción de rayos X de polvo

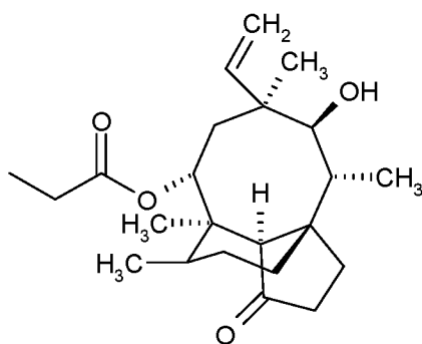
Un "ensayo de pérdida de peso" tal como se indica en los ejemplos se define del siguiente modo: se determina el contenido de una parte alícuota de un lote o de todo el lote eliminando el disolvente y determinando el contenido por HPLC o RMN utilizando un patrón interno o externo y/o sustrayendo las impurezas conocidas del compuesto. En el caso de tomar una parte alícuota, se lleva a cabo una extrapolación a la masa/volumen total.

Un "aclaramiento acorde" tal como se indica en los ejemplos es un aclaramiento del sistema en el que se utiliza un disolvente apropiado para reducir al mínimo las pérdidas del producto y los materiales de entrada.

Tos-PLEU es un compuesto de fórmula



PLEU un resto de fórmula



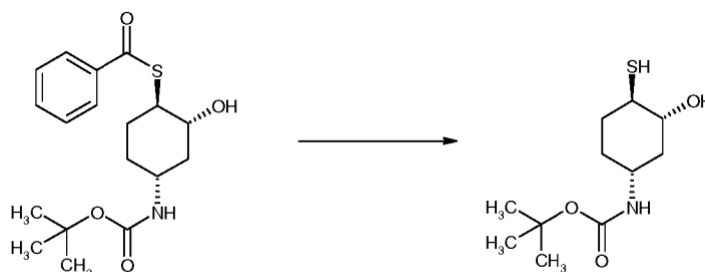
En los siguientes ejemplos todas las temperaturas están en grados Celsius (°C) y están sin corregir.

5 Las abreviaturas utilizadas son las indicadas (a continuación del ESQUEMA 2).

Ejemplo 1

Carbamato de *tert*-Butil [(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo]

10



15 Se cargaron 3,94 Kg de benceno-carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo} y 37 l de CH₂Cl₂ en un vaso y se agitó la mezcla obtenida a 15-25 °C. Se añadieron 0,39 Kg de 1,4-ditio-DL-treitol (10 % en peso) a la mezcla y se aclaró a través de 2 l de CH₂Cl₂. Se añadió a la mezcla obtenida 0,84 Kg de monohidrato de hidracina. Se agitó la mezcla obtenida a entre 18 y 22 °C durante 3 h y se siguió la reacción por HPLC. Una vez completada la reacción, se añadieron 39 l de solución de ácido fosfórico 1 M y se agitó la mezcla obtenida durante otros 15-30 min. Se separaron las dos fases formadas y se lavó la fase orgánica obtenida con 39 l de solución de ácido fosfórico 1M seguido de 39 l de solución acuosa de NaCl al 1 %. Se concentró la capa orgánica obtenida al vacío a <40 °C, se añadieron al residuo concentrado 20 l de CH₂Cl₂ y se volvió a concentrar la mezcla obtenida. Se añadieron al residuo concentrado obtenido otros 8 l de CH₂Cl₂ y se concentró a sequedad la mezcla obtenida.

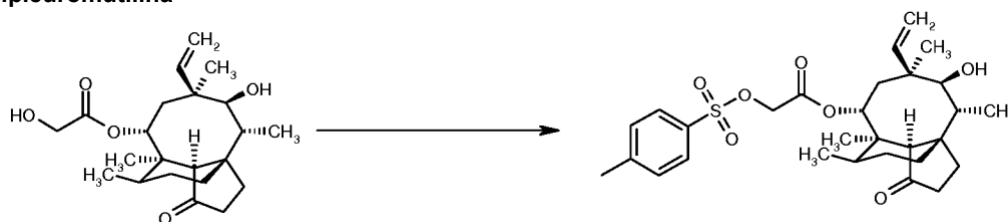
20

Se obtuvieron 2,89 Kg de carbamato de *tert*-butil [(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo] en forma de un sólido blanco.

25 ¹H RMN (200 MHz, DMSO-d₆, ppm) δ 6,79 (d, J=7,8 Hz, 1H), 4,99 (d, J=5,8 Hz, 1H), 3,34 - 3,24 (m, 1H), 3,14 - 3,04 (m, 1H), 2,37 (d, J=3,8 Hz, 1H), 2,00 -1,89 (m, 1H), 1,87 -1,82 (m, 1H), 1,73 - 1,67 (m, 1H), 1,47 - 1,04 (m, 12H).

Ejemplo 2

30 22-O-Tosilpleuromutilina



22-O-Tosilpleuromutilina es un compuesto conocido por la bibliografía. No obstante, a continuación, se describe un procedimiento de preparación.

35 Se trató una solución de 13,0 kg de pleuromutilina y 6,57 kg de cloruro de 4-toluenosulfonilo en 42,1 l de CH₂Cl₂ a entre 10 y 15 °C con 9,1 l de NaOH acuoso 5,7 M durante 20 min, manteniendo la temperatura a < 25 °C. Se calentó la suspensión blanquecina resultante a reflujo durante 20 h y se siguió la reacción hasta completarse determinada por

HPLC. Una vez completada la reacción se enfrió la mezcla obtenida a entre 20 y 30 °C, se diluyó con 52 l de CH₂Cl₂, se agitó a entre 15 y 25 °C durante 10 min y se separaron las capas obtenidas. Se lavó la fase orgánica obtenida varias veces con 52 l de agua hasta ajustar el pH de la capa acuosa a < 9. Se concentró la capa orgánica obtenida a 4 volúmenes y se secó azeotrópicamente dos veces con 52 l de CH₂Cl₂. Se añadieron a la solución obtenida 52 l de heptano gota a gota y se concentró la solución obtenida a < 40 °C a aproximadamente 4 volúmenes. Se añadieron al concentrado obtenido 52 l de heptano y se agitó la suspensión resultante a entre 20 y 25 °C durante 2 a 2,5 h, se filtró, se lavó la torta del filtro obtenida con 39 l de heptano y se presionó sobre el filtro para secarla.

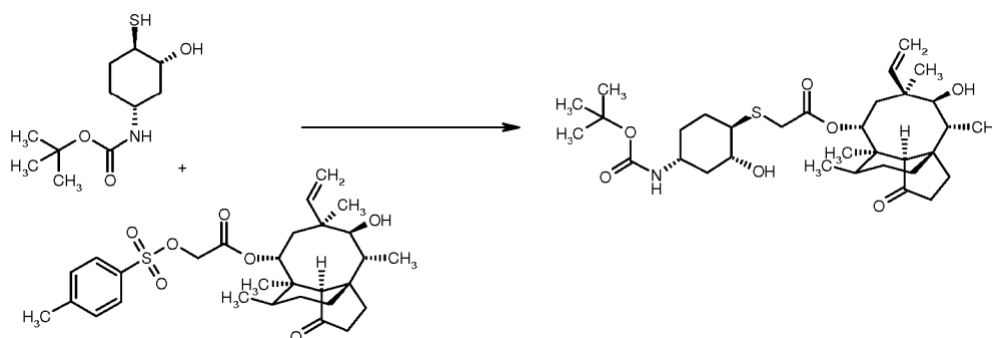
Se secó el sólido al vacío a < 40 °C durante al menos 12 h.

Se obtuvieron 16,9 kg de 22-O-tosilpleuromutilina en forma de un sólido blanco.

¹H RMN (200 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 7,81 (d, 2H), 7,47 (d, 2H), 6,14 - 6,0 (m, 1H), 5,54 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,08 - 4,99 (m, 2H), 4,70 (AB, J=16,2 Hz, 2H), 3,41 (d, J=5,2 Hz, 1H), 2,41(s, 4H), 1,04(s, 3H), 0,81 (d, 3H), 0,51 (d, 3H)

Ejemplo 3

14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina



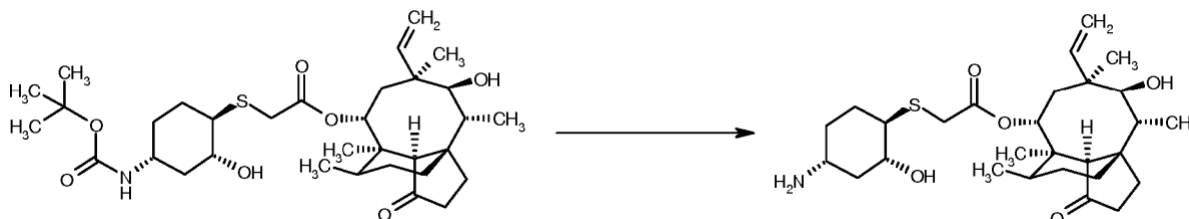
Se cargaron 4,75 Kg de tosilato de pleuromutilina (Tos-PLEU) y 44,4 l de MTBE en un vaso y se añadieron a la mezcla obtenida 0,31 Kg de cloruro de bencil-tri-n-butilamonio y se aclaró a través de 2,4 l de MTBE. Se añadieron a la mezcla obtenida 20 l de solución acuosa 1 M NaOH y 2,84 Kg de carbamato de *tert*-Butil [(1R,3R,4R)-3-hidroxi-4-mercaptociclohexilo] y se agitó la mezcla obtenida a entre 17 y 23 °C durante 3 h. Una vez completada la reacción (determinado por HPLC) se separaron las dos capas formadas y se separó la capa acuosa inferior. Se lavó la fase orgánica obtenida con 19 l de solución acuosa 1 M de NaOH, dos veces con 20 l de ácido fosfórico 0,1 M, 20 l de solución acuosa 10 % de NaHCO₃ y dos veces con 20 l de agua. Se concentraron las aguas orgánicas obtenidas, se recogió el concentrado obtenido en 7,46 Kg de 2-propanol, se volvió a concentrar la mezcla obtenida y se secó al vacío a <40 °C. Se obtuvieron 6,66 Kg de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de una espuma blanca.

¹H RMN (200 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 6,78 (d, J=7,8 Hz, 1H), 6,22 - 6,08 (m, 1H), 5,55 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,13 - 5,02 (m, 2H), 4,95 (d, J=5 Hz, 1H), 4,52 (d, J=6 Hz, 1H), 3,36 (AB, J=15 Hz, 2H), 2,40 (s, ancho, 1H), 2,15 - 2,0 (m, 3H), 1,9 - 1,8 (m, 1H), 1,35 (s, 9H), 0,81 (d, J=7 Hz, 3H), 0,62 (d, J=6,6 Hz, 3H)

EM (ESI, g/mol): m/z 653 [M+2Na]⁺

Ejemplo 4

14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina 2



Etapa A: 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en forma cristalina 1

Se cargaron 6,6 Kg de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina y 13,2 l de isopropanol en un vaso y se agitó a entre 20 y 25 °C. Se añadieron 11,20 kg de ácido fosfórico 85 % y se calentó la mezcla obtenida a aproximadamente 50 °C durante al menos 16 h. Se analizó la mezcla obtenida para

determinar si se había completado la reacción por HPLC. Una vez completada la reacción se enfrió la mezcla a entre 20 y 25 °C y se añadieron 52 l de CH₂Cl₂. Se enfrió la mezcla obtenida a entre 0 y 5 °C y 51 l de solución acuosa al 30 % de K₂CO₃ durante 1 h a <25 °C. Se templó la mezcla obtenida a temperatura ambiente, se agitó durante 30 min y se determinó el pH de la capa acuosa. Se añadieron a la mezcla obtenida 15 l más de solución acuosa al 30% de K₂CO₃ a <25 °C, se agitó la mezcla obtenida a entre 15 °C y 25 °C durante 30 min y se separaron las dos fases obtenidas. Se extrajo la fase acuosa obtenida con 51 l de CH₂Cl₂ y se lavaron las fases orgánicas combinadas con 51 l de agua purificada. Se concentró la mezcla obtenida a un volumen de 25 l, se añadieron 33,6 Kg de CH₂Cl₂ y se concentró la mezcla obtenida a 25 l. Se añadieron al concentrado obtenido 33,6 Kg de CH₂Cl₂ y se concentró la mezcla obtenida a 10 l. Se enfrió el residuo concentrado obtenido a entre 18 y 22 °C y se añadieron 50 l de éter di-*iso*-propílico durante un período de 1 h. Se agitó la suspensión espesa obtenida a entre 15 y 25 °C durante un mínimo de 2 h, se filtró y se lavó el sólido obtenido con 10 l de éter di-*isopropílico* y se secó.

Se obtuvieron 3,79 Kg de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en forma cristalina 1.

15 Etapa B: 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina, en forma cristalina 2

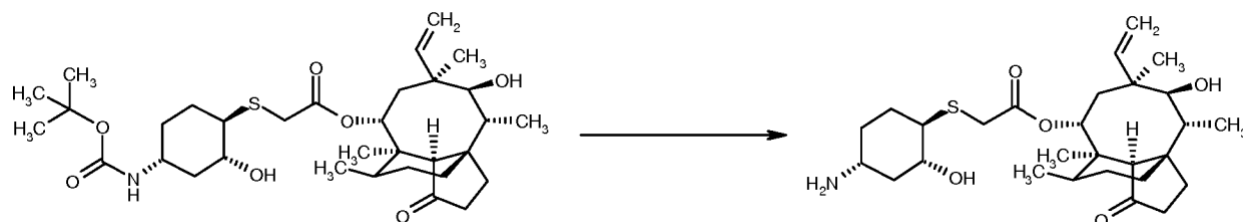
Para mayor purificación, se calentaron 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina de la Etapa A y 18,75 l de *n*-butanol a entre 88 y 92 °C hasta una disolución completa y se agitó durante 30 a 60 min. Se dejó enfriar la mezcla obtenida a entre 40 y 45 °C durante al menos 2 h y después se agitó a esta temperatura durante 2 h. Se filtró la mezcla obtenida y se lavó el precipitado obtenido con 3,75 l de *n*-butanol seguido de 3,75 l de MTBE. Se repitió el mismo procedimiento de purificación y se secó al vacío el producto resultante a <40 °C.

Se obtuvieron 3,27 Kg de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina cristalina en forma cristalina 2 en forma de un sólido blanco.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃, ppm, entre otros) δ 6,51 - 6,44 (m, 1H), 5,78 (d, J=8 Hz, 1H), 5,38 - 5,20 (m, 2H), 3,48 - 3,40 (m, 1H), 3,36 (d, J=7 Hz, 1H), 3,25 (AB, J=15 Hz, 2H), 2,92 - 2,82 (m, 1H), 2,6 - 2,5 (m, 1H), 1,45 (s, 3H), 1,20 (s, 3H), 0,88 (d, J=7 Hz, 3 H), 0,73 (d, J=8 Hz, 3H) EM (ESI, g/mol): m/z 508 [M+H]⁺

30 **Ejemplo 5**

14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina 1



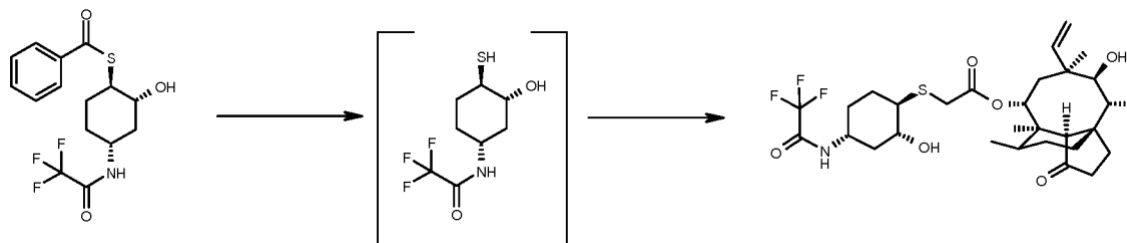
35 Se añadió a una solución de 900 g de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-*terc*-butoxicarbonilamino-2-hidroxiciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en 9 l de CH₂Cl₂ a entre 15 y 25 °C 1,8 l de TFA a entre 15 y 25 °C y se agitó la solución resultante durante 2 h. Una vez completada la reacción, se concentró la mezcla de reacción al vacío y se secó azeotrópicamente el residuo concentrado obtenido con un total de 9 l de CH₂Cl₂. Se disolvió el concentrado obtenido en 4,5 l de CH₂Cl₂, se enfrió la solución obtenida a entre 0 y 5 °C y se ajustó el pH a 11 con 3,6 l de solución acuosa (2,5 M) de K₂CO₃.
40 Se templó la mezcla bifásica obtenida a entre 15 y 20 °C y se agitó durante 5 a 10 minutos. Se separaron las capas obtenidas. Se extrajo la fase acuosa obtenida con 1,8 l de CH₂Cl₂, se combinaron las fases orgánicas obtenidas 2,3 l de H₂O, se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a sequedad al vacío a <40 °C. Se obtuvo 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en bruto. Rendimiento: 744 g

45 Para una mayor purificación se aplicó el siguiente procedimiento: se añadieron a 744 g de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en bruto 2,23 l de THF y se agitó la suspensión resultante a entre 15 y 25 °C durante 60 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 7,44 l de MTBE durante 15 a 30 min, se envejeció la suspensión obtenida durante 60 min y se filtró bajo nitrógeno. Se lavaron los sólidos recogidos con un total de 3 l de MTBE y se purificó a sequedad sobre el filtro bajo nitrógeno durante 1,5 h.

50 Se obtuvieron 626 g de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma cristalina 1.

El patrón ¹H RMN confirma la estructura de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]- acetil]-mutilina. El patrón RMN para 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina se describe en el ejemplo 4.

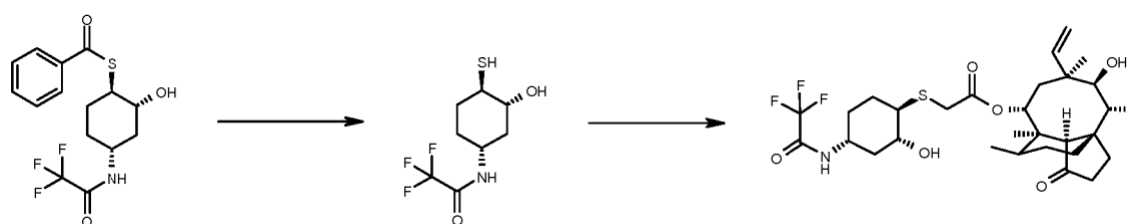
55

Ejemplo 6**14-O-[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(2,2,2-Trifluoroacetil)-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina****5 Procedimiento 1**

Se cargaron 45,3 g de carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(2,2,2-Trifluoro-acetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexil}-benceno y 453 ml de CH₂Cl₂ en un matraz y se desgasificó la mezcla obtenida a 15-25 °C con argón durante 25 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 12,79 g de monohidrato de hidracina gota a gota seguido de un aclarado acorde de 90,6 ml de CH₂Cl₂. Se agitó la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 2 h y se siguió por TLC la reacción hasta completarse. Una vez completada la reacción, se enfrió la mezcla obtenida a entre 15 y 20 °C y se lavó con 158,6 ml de solución 2 M de HCl. Se separaron las fases obtenidas, se retornó al vaso la fase acuosa obtenida, se añadieron 158,6 ml de solución acuosa saturada de NaCl y se volvió a extraer la mezcla obtenida con 2 x 78,8 ml de CH₂Cl₂. Se lavaron las fases orgánicas combinadas obtenidas con 90,6 ml de solución acuosa saturada de NaCl y se concentró la capa orgánica obtenida a 2 volúmenes al vacío a <40 °C. Se añadieron al concentrado obtenido 226,5 ml de CH₂Cl₂ y se concentró la mezcla obtenida a 2 volúmenes. Se añadieron al concentrado obtenido 362,4 ml de CH₂Cl₂. Se llevó a cabo un ensayo de pérdida de peso de la mezcla obtenida para determinar el contenido de 2,2,2-trifluoro-N-[(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexil]-acetamida y se determinó un rendimiento de 27,1 g.

Se desgasificó la solución de 2,2,2-trifluoro-N-[(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexil]-acetamida (que contenía 27,1 g), obtenida tal como se ha descrito, con argón. Se añadieron 56,5 g de tosilato de pleuromutilina, seguido de un aclarado acorde de 54,3 ml de CH₂Cl₂ y se agitó la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 15 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 34,0 g de DBU disuelto en 34 ml de CH₂Cl₂ durante 30 min y se agitó la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 1 h hasta completarse la reacción. Se lavó la mezcla obtenida con 2 x 222,5 ml de H₂SO₄ 2 M seguido de 2 x 222,5 ml de solución acuosa al 5 % de NaHCO₃ y se concentró la mezcla obtenida a sequedad al vacío a 40 °C. Se obtuvieron 72,7 g de 14-O-[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(2,2,2-Trifluoroacetil)-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de una espuma blanquecina.

¹H RMN (200 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 9,31 (d, 1H,), 6,15 (dd, J=17,8 Hz, J=11,1 Hz, 1H), 5,55 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,17 - 5,02 (m, 3H, H-20), 5,53 (d, J=5,8 Hz, 1H), 3,80 - 3,60 (m, 1H), 3,50 - 3,20 (m, 4H), 2,65 - 2,41 (m, 2H), 2,29 - 1,84 (m, 6H), 1,80 - 1,40 (m, 6H), 1,40 - 1,17 (m, 9H), 1,17 - 0,95 (m, 5H), 0,82 (d, J=6,8 Hz, 3H), 0,63 (d, J=5,8 Hz, 3H)

35 Procedimiento 2**Etapa A: 2,2,2-trifluoro-N-[(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexil]-acetamida**

Se disolvieron 5,79 g de carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(2,2,2-Trifluoro-acetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexil}-benceno en 81 ml de diclorometano, se añadieron 1,67 g (1,62 ml) de hidrato de hidracina y se agitó la solución resultante a ta durante 3,5 h. Se añadieron a la mezcla obtenida 40 ml de 1 M HCl y se agitó la mezcla bifásica obtenida vigorosamente durante 10 min. Se separaron las fases y se lavó la fase orgánica obtenida con 40 ml de HCl 1 M. Se saturaron las capas acuosas combinadas con NaCl y se lavaron con 30 ml de DCM; y se secaron las fases orgánicas combinadas sobre sulfato sódico anhidro y se concentró a sequedad.

Se obtuvieron 3,41 g de 2,2,2-trifluoro-N-[(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexil]-acetamida en forma de cristales incoloros.

¹H RMN (200 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 9,31 (d, J=7,2 Hz, 1H), 5,12 (d, J=5,1 Hz, 1H), 3,82 - 3,6 (m, 1H),

3,24 - 3,09 (m, 1H), 2,62 - 2,5 (m, 1H), 2,40 (s, ancho, 1H), 2,03 - 1,84 (m, 2H), 1,74 - 1,71 (m, 1H), 1,47 - 1,21 (m, 3H)

Etapa B: 14-O-[[[(1R,2R,4R)-[(2,2,2-Trifluoro-acetyl)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina

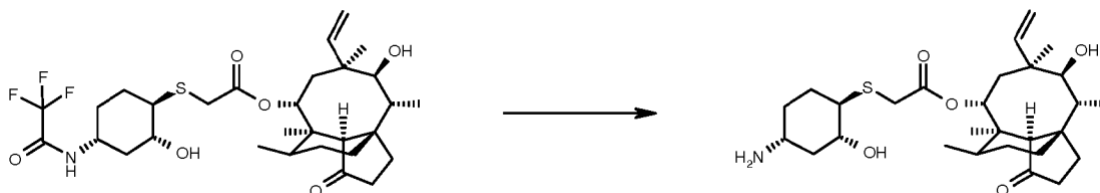
5 Se disolvieron 5,91 g de 2,2,2-trifluoro-N-[(1R,3R,4R)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexil]-acetamida y 11,78 g de tosilato de pleuromutilina en 82,5 ml de DCM y se desgasificó la solución obtenida con argón durante 20 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 6,91 g de DBU en 27,5 ml de DCM durante 30 min. Una vez completada la reacción (TLC control) se añadieron a la mezcla obtenida 25 ml de HCl 2 M y se agitó la mezcla obtenida vigorosamente durante 10 min. Se separaron las fases obtenidas, se la fase orgánica obtenida con 12,5 ml de HCl 2 M y a continuación con 25 ml de solución 5 % de bicarbonato sódico, se secó sobre sulfato sódico anhidro y se filtró. A partir del filtrado obtenido se evaporó el disolvente al vacío.

15 Se obtuvieron 16,8 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-trifluoro-acetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en forma de una espuma incolora. (El material contenía sal tosilato de DBU y DCM residual).

20 El patrón de ¹H RMN confirmó la estructura de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-Trifluoroacetil)-amino]-2-hidroxiciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina. El patrón RMN para 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-Trifluoro-acetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina se describe en el ejemplo 6, procedimiento 1.

Ejemplo 7

14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina 2



25 Se cargaron 72,7 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-Trifluoro-acetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en bruto, 419,9 ml de metanol y 168 ml de agua en un matraz y se templó la mezcla obtenida a entre 40 y 45 °C. Se añadieron a la mezcla obtenida 67,3 g de K₂CO₃ y se agitó la mezcla obtenida a entre 40 y 45 °C durante 5 h. Se siguió la reacción por HPLC hasta completarse. Una vez completada la reacción, se enfrió la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C, se añadieron 588 ml de CH₂Cl₂ y 588 ml de ácido fosfórico 2 M y se agitó la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 15 min. Se filtró la mezcla obtenida bifásicamente, se separó y se extrajo la capa orgánica obtenida con 588 ml de ácido fosfórico 1 M. Se separaron las fases obtenidas y se añadieron a las capas acuosas combinadas (producto) 588 ml de CH₂Cl₂ y se enfrió la mezcla obtenida a entre 10 y 15 °C. Se añadió a la mezcla obtenida NaOH 6 M gota a gota a <25 °C hasta que se alcanzó un pH >9 (fueron necesarios 275 ml). Se filtró la mezcla obtenida bifásicamente y se separaron las capas obtenidas. Se concentró la capa orgánica obtenida (producto) a aproximadamente 5 volúmenes al vacío a <40 °C, se añadieron 176 ml de CH₂Cl₂ y se concentró la mezcla obtenida una vez más a 2 volúmenes al vacío a <40 °C. Se añadieron al concentrado obtenido 323,5 ml de *n*-butanol gota a gota, se concentró la mezcla obtenida a 5 volúmenes al vacío a <40 °C y se agitó el concentrado obtenido a entre 20 y 25 °C durante 2 h. Se filtró la mezcla obtenida, se lavó el precipitado obtenido con 117,6 ml de *n*-butanol y se secó el sólido obtenido durante toda la noche al vacío a 40 °C para producir 44,2 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en forma cristalina 2.

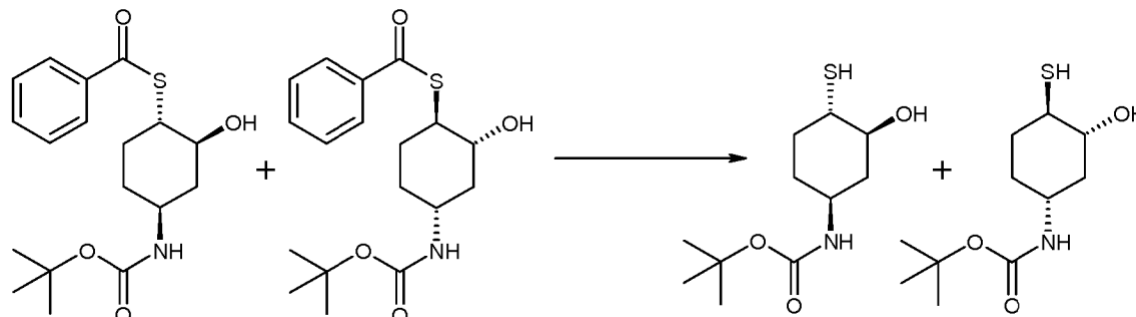
45 Se cargaron 44,2 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en bruto en un vaso limpio y se añadieron 221 ml de *n*-butanol. Se calentó la mezcla obtenida a entre 88 y 92 °C, se agitó durante 40 min, se dejó enfriar a una velocidad constante durante 3 h a entre 40 y 45 °C y se agitó durante 2 h más. Se filtró la mezcla obtenida, se lavó con 44,2 ml de *n*-butanol seguido de 44,2 ml de MTBE y se secó al vacío a <40 °C.

Se obtuvieron 37,6 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina cristalina en forma cristalina 2 en forma de un sólido cristalino blanco.

50 El patrón de ¹H RMN confirmó la estructura de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina. El patrón de RMN para 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina se describe en el ejemplo 4.

Ejemplo 8

Carbamato de *tert*-Butil [(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo] y carbamato de *tert*-butil [(1*S*,3*S*,4*S*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo]



5

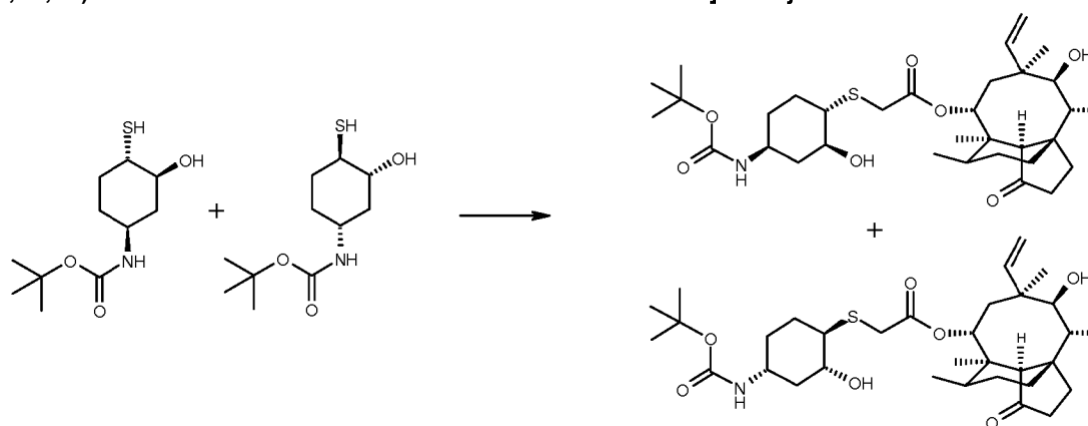
Se cargaron 7,22 g de una mezcla de benceno-carbotoiato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxiciclohexilo} con benceno-carbotoiato de {(1*S*,2*S*,4*S*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo} y 72 ml de CH₂Cl₂ en un matraz y se agitó la mezcla obtenida a 15-25 °C. Se desgasificó la mezcla obtenida utilizando argón durante un período de 20 minutos. Se añadieron a la mezcla obtenida 0,72 g de 1,4-ditio-DL-treitol y se añadieron 1,5 g de monohidrato de hidracina gota a gota. Se siguió la reacción por TLC hasta completarse. Una vez completada la reacción (2,5 h), se añadieron a la mezcla obtenida 72 ml de solución 1 M de ácido fosfórico y se agitó la mezcla obtenida durante 15 min. Se separaron las fases obtenidas, se lavó la fase orgánica inferior con 72 ml de ácido fosfórico 1 M seguido de 72 ml de solución 1 % NaCl, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro (10 g), se filtró y se aclaró el sólido a través de 2 x 10 ml de CH₂Cl₂. Se concentró al vacío la mezcla obtenida a ≤ 40 °C. Se obtuvieron 5,01 g de una mezcla de carbamato de *tert*-butil [(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo] con carbamato de *tert*-butil-[(1*S*,3*S*,4*S*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo] en forma de un sólido blanco.

¹H RMN (200 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 6,79 (d, J=7,8 Hz, 1H), 5,01 (d, J=5,6 Hz, 1H), 3,40 - 3,20 (m, 1H), 3,1 - 3,0 (m, 1H), 2,38 (d, J=3,8 Hz, 1H), 2,01 - 1,78 (m, 2H), 1,73 - 1,61 (m, 1H), 1,47 - 1,01 (m, 12H)

20

Ejemplo 9

14-O-[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina y 14-O-[(1*S*,2*S*,4*S*)-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina



25

Se cargaron 9,68 g de tosilato de pleuromutilina y 101 ml de MTBE en un matraz y se desgasificó la mezcla obtenida a ta utilizando argón durante 5 a 10 minutos. Se añadieron a la mezcla obtenida 0,64 g de cloruro de bencil-tri-n-butilamonio, 4,72 g de una mezcla de carbamato de *tert*-butil [(1*R*,3*R*,4*R*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo] con carbamato de *tert*-butil [(1*S*,3*S*,4*S*)-3-hidroxi-4-mercapto-ciclohexilo] y 40 ml de solución acuosa 1 M de NaOH con agitación. Se agitó la mezcla obtenida a 20-25 °C y se siguió la reacción por HPLC hasta completarse. Una vez completada la reacción (1 h) se separaron las capas obtenidas y se separó la capa acuosa inferior. Se lavó la fase orgánica obtenida con 40 ml de solución acuosa 1 M de NaOH, 2 x 40 ml de ácido fosfórico 0,1 M seguido de 40 ml de solución 10 % de NaHCO₃ y 40 ml de H₂O. Se concentraron las aguas orgánicas obtenidas y se secaron al vacío a ≤ 40 °C. Se obtuvieron 11,88 g de una mezcla de 14-O-[(1*R*,2*R*,4*R*)-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina con 14-O-[(1*S*,2*S*,4*S*)-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en forma de una espuma blanca (sin corregir en cuanto al disolvente residual)

35

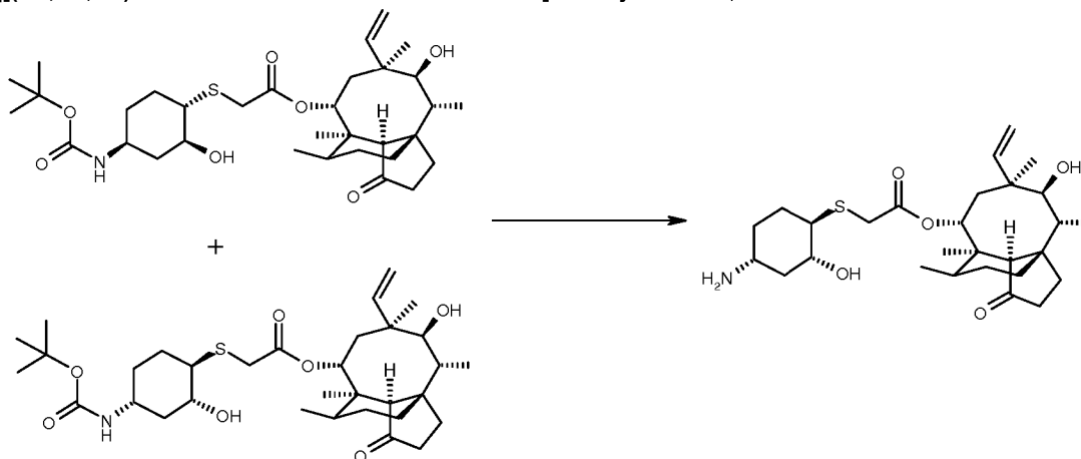
¹H RMN (200 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 6,79 (d, J=7,8 Hz, 1H), 6,22 - 6,07 (m, 1H), 5,55 (d, J=8 Hz, 1H), 5,12 - 4,96 (m, 3H), 4,54 (d, J=6 Hz, 1H), 3,55 - 3,24 (m, 4H), 2,54 - 2,50 (m, 1H), 2,41 (s, ancho, 1H), 2,23 - 1:80 (m,

5H), 1,71 - 1,56 (m, 3H), 1,56 - 1,43 (m, 2H), 1,42 - 1,31 (m, 14H), 1,31 - 1,18 (m, 4H), 1,10 - 0,91 (m, 5H), 0,82 (d, J=6,6 Hz, 3H), 0,63 (d, J=5,8 Hz, 3H)

Ejemplo 10

5

14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina 2



Se cargaron 10,69 g de una mezcla de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxiciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina con 14-O-[[*(1S,2S,4S)*-4-*tert*-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina (corregido en cuanto al disolvente residual) y 24 ml de isopropanol en un matraz y se agitó la mezcla obtenida. Se añadieron a la mezcla obtenida 12 ml de ácido fosfórico 85 % y se calentó la mezcla obtenida a 50 °C durante toda la noche. Una vez completada la reacción según se determinó por HPLC, se enfrió la mezcla obtenida a ta y se añadieron 119 ml de CH₂Cl₂. Se enfrió la mezcla obtenida a entre 0 y 5 °C y se añadieron gota a gota 119 ml de solución acuosa 30 % de K₂CO₃ durante 1 h. Se templó la mezcla obtenida a ta y se dejó reposar. Se separaron las fases formadas y se separó la capa orgánica inferior (producto). Se extrajo la capa acuosa obtenida (medido a pH 10) con 119 ml de CH₂Cl₂ y se lavaron las fases orgánicas combinadas con 119 ml de H₂O. Se concentró la fase orgánica obtenida a aproximadamente 5 volúmenes, se añadieron 59 ml de CH₂Cl₂ y se concentró la mezcla obtenida de nuevo a aproximadamente 5 volúmenes. Se volvió a añadir al concentrado obtenido 59 ml de diclorometano y se concentró la mezcla obtenida a 2 volúmenes.

20

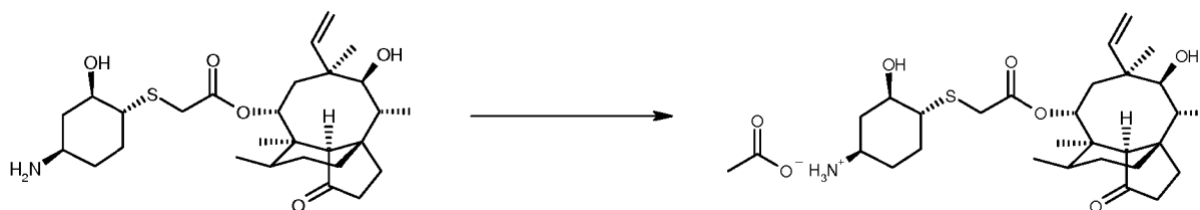
Se añadieron al concentrado obtenido 119 ml de éter di-isopropílico gota a gota con agitación durante un período de 1 h. Se obtuvo un precipitado oleoso espeso que se convirtió en cristales blancos al cabo de aproximadamente 1 h. Se agitó la mezcla obtenida a entre 15 y 25 °C durante 2 h, se filtró, se lavó el precipitado obtenido con 24 ml de éter di-isopropílico y se presionó para secarlo sobre el filtro. Se obtuvieron 8,28 g (sin corregir en cuanto al disolvente residual) de una mezcla de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina con 14-O-[[*(1S,2S,4S)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en forma de un sólido (relación 59 : 41). Se cargaron 8,28 g de la mezcla en bruto obtenida y 41 ml de *n*-butanol en un matraz y se calentó la mezcla obtenida a entre 88 y 92 °C con agitación durante 30 min. Se dejó enfriar la mezcla obtenida a ta durante aproximadamente 3 h. Se observó que comenzaba a precipitar a ~50 °C y se agitó la mezcla obtenida a ta durante toda la noche. Se filtró la mezcla obtenida y se lavó el precipitado obtenido con 16,6 ml de *n*-butanol seguido de 16,6 ml de MTBE y se secó al vacío a ≤ 40 °C. Se obtuvieron 4,27 g de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina en forma de un sólido blanco cristalino en forma cristalina 2. Se determinó la pureza óptica al 93 % por HPLC quiral y se determinó la pureza química fue 99,14 % del área según se determinó por RP HPLC.

30

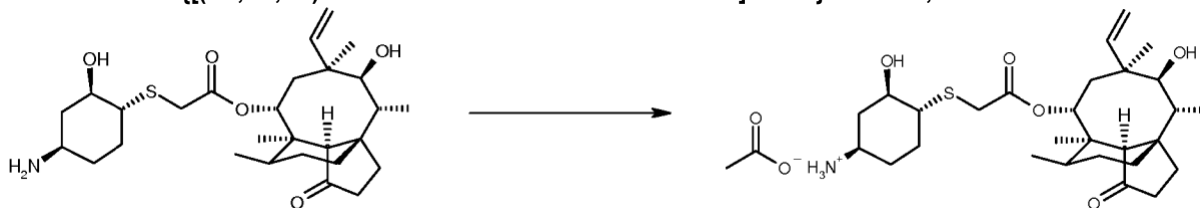
35 Asimismo, la comparación de la rotación óptica de una muestra auténtica de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina con la rotación óptica de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina obtenida tal como se ha descrito confirmó la pureza quiral también; ([α]_D (CHCl₃) = +24,9° frente a +25,9° para la muestra auténtica).

40 Se evaporaron las aguas madre resultantes de la recristalización en *n*-butanol a sequedad para dar una espuma blanca. Se obtuvieron 3,67 g de una mezcla de 14-O-[[*(1S,2S,4S)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina con 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina (relación 84,0:16,0; determinado por HPLC quiral).

45 El patrón de ¹H RMN confirmó la estructura de 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina. El patrón RMN para 14-O-[[*(1R,2R,4R)*-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina se describe en el ejemplo 4.

Ejemplo 11**Acetato de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina A**

- 5 Se añadieron a una suspensión de 615 g de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en 12,3 l de acetato de metilo a entre 50 y 55 °C 62 ml de agua y se aclaró la solución turbia resultante a través de un papel de filtro FV. Se calentaron los filtrados obtenidos a entre 50 y 55 °C (solución transparente), se añadieron 123 ml de ácido acético, se agitó la mezcla resultante a entre 50 y 55 °C durante 25 minutos, se enfrió a entre 15 y 25 °C durante 80 minutos y se siguió enfriando a entre 0 y 5 °C durante 60 min. Se envejeció la suspensión resultante a entre 0 y 5 °C durante 80 minutos, se filtró y se lavó la torta del filtro con 3,08 l de acetato de metilo. Se presionó la torta de filtro para secarla sobre el filtro bajo nitrógeno durante 2 horas. Se obtuvieron 574,1 g de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de un acetato en forma de un polvo blanco cristalino en forma cristalina A.
- 15 El patrón ¹H RMN confirmó la estructura de acetato de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxiciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina. El patrón RMN para 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina acetato se describe en el ejemplo 12.

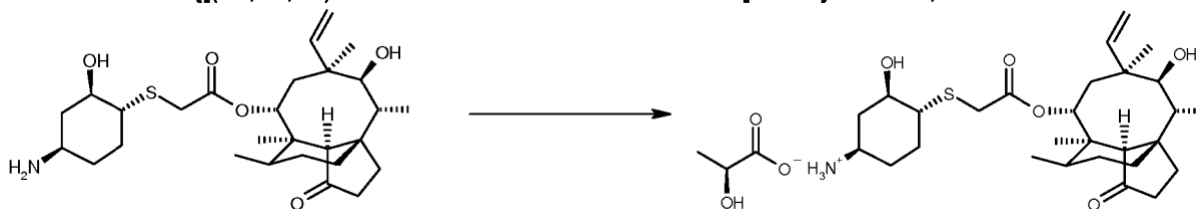
Ejemplo 12**Acetato de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina B****Procedimiento 1**

- 25 Se añadieron a una suspensión de 3260 g de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en 56,8 l de acetato de isopropilo 10 g de cristales de siembra de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma cristalina B. La cristalización también tiene lugar sin la adición de cristales de siembra. Se agitó la suspensión resultante a entre 20 y 25 °C durante ≥10 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 353 ml de ácido acético y se agitó la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 1 h y se determinó si se había completado y la forma polimórfica por XRPD. Se agitó la suspensión obtenida durante 1 h más a entre 20 y 25 °C, se filtró y se lavó dos veces la torta de filtro obtenida con 2,84 l cada una de acetato de isopropilo. Se secó al vacío el sólido obtenido a 50 °C durante al menos 12 h. Se obtuvieron 3,15 kg de acetato de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de un sólido blanco cristalino en forma cristalina B.

Procedimiento 2

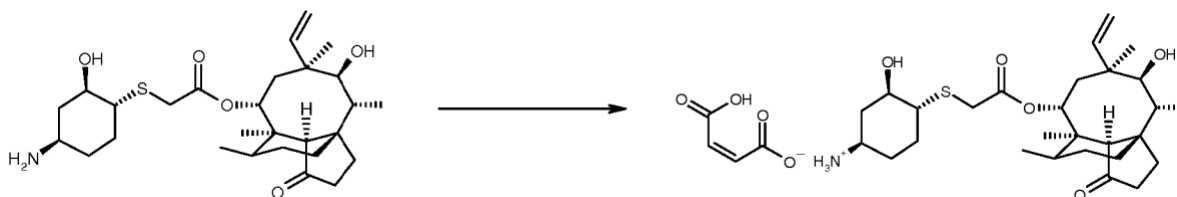
Se disolvieron 2,00 g de 14-O-[[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en 6 ml de metanol. Se añadieron a la mezcla obtenida 0,338 ml de ácido acético en una porción y se agitó la solución obtenida durante 15 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 30 ml de acetato de isopropilo durante 30 min y se agitó la suspensión resultante durante 30 min. Se calentó la suspensión espesa obtenida a 30 °C, se eliminaron por destilación 15 volúmenes y se realizaron 3 reducciones (de 3 volúmenes cada una) de acetato de isopropilo. Se filtró la suspensión espesa obtenida y se aisló el precipitado blanco obtenido, se lavó con acetato de isopropilo y se secó durante toda la noche. Se obtuvieron 1,74 g de acetato de [[1R,2R,4R]-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de un sólido blanco cristalino en forma cristalina B.

- 45 ¹H RMN (500 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 6,16 - 6,10 (m, 1 H), 5,54 (d, J=8,3 Hz, 1H), 5,09 - 5,02 (m, 2H), 3,42 (d, J=6 Hz, 1H), 3,37 (AB, J=15 Hz, 2H), 3,29 - 3,25 (m, 1H), 2,77 - 2,67 (m, 1H), 2,55 - 2,5 (m, 1H), 2,40 (s, ancho, 1H), 2,23 - 2,12 (m, 1H), 2,12 - 2,03 (m, 3H), 2,03 - 1,95 (m, 1H), 1,94 - 1,85 (m, 1H), 1,77 (s, 3H), 1,77 - 1,71 (m, 1H), 1,7 - 1,57 (m, 2H), 1,52 - 1,43 (m, 1H), 1,43 - 1,37 (m, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,37 - 0,96 (m, 10H), 0,81 (d, J=7 Hz, 3H), 0,62 (d, J=7 Hz, 3H)

Ejemplo 13**L-lactato de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina 1**

- 5 Se cargaron 22 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina y 1,1 l de EtOAc en un vaso. Se calentó la suspensión obtenida a 50 °C y se mantuvo hasta su disolución. Se añadió a la mezcla obtenida 1 equivalente de ácido L-láctico 98 % y se enfrió gradualmente la mezcla obtenida a 25 °C durante 3 h. Opcionalmente, se añadieron cristales de siembra de L-lactato de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina. La cristalización tuvo lugar también sin cristales de siembra. Se agitó la suspensión resultante a 20-25 °C
- 10 durante toda la noche y se siguió enfriando a 5 °C durante 1 h. Se aisló el precipitado obtenido por filtración y se secó al vacío a 40 °C durante toda la noche. Se obtuvieron 23,7 g de L-lactato de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma cristalina 1.

- 15 ¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆, ppm, entre otros) δ 6,13 (dd, J=11 y 18 Hz, 1H), 5,54 (d, J=8 Hz, 1H), 5,10 - 5,01 (m, 2H), 4,53 (d, ancho, 1H), 3,60 (dd, J=7 y 14 Hz, 1H), 3,40 (AB, J=15 Hz, 2H), 2,93 (m, 1H), 2,55 - 2,48 (m, 1H), 2,39 (s, ancho, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,09 (d, J=7 Hz, 3H), 1,04 (s, 3H), 0,81 (d, J=7 Hz, 3H), 0,61 (d, J=7 Hz, 3H).

Ejemplo 14**20 Hidrogenomaleato de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexilsulfanil]-acetil]-mutilina, forma cristalina 1**

- 25 Se cargaron 5,5 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina y 110 ml de EtOAc en un matraz. Se calentó la suspensión obtenida a 80 °C y se mantuvo hasta su disolución. Se cargaron en la mezcla obtenida 10,8 ml de ácido maleico 1 M en THF y se dejó enfriar la mezcla obtenida a ta durante toda la noche con agitación.

- 30 Opcionalmente, se añadieron cristales de siembra de hidrogenomaleato de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina. La cristalización tuvo lugar también sin los cristales de siembra. Se aislaron por filtración 6,16 g de 14-O-[[[(1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxiciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de una sal hidrogenomaleato cristalina en forma cristalina 1 y se secaron durante 6 h al vacío.

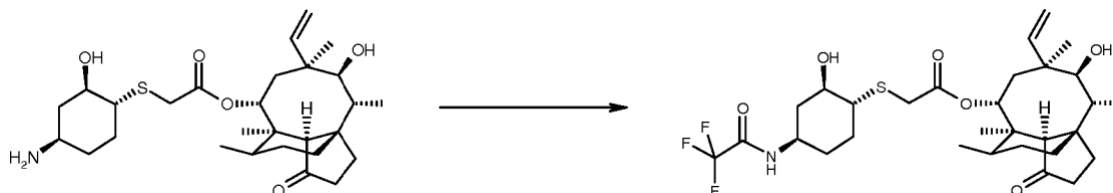
- 35 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆, ppm, entre otros) δ 6,13 (dd, J=11 y 18 Hz, 1H), 6,00 (s, 2H), 5,54 (d, J=8 Hz, 1H), 5,10 - 5,01 (m, 2H), 4,54 (d, J=6 Hz, 1H), 3,40 (AB, J=15 Hz, 2H), 3,05 (m, 1H), 2,56 - 2,49 (m, 1H), 2,40 (s, ancho, 1H), 1,36 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,81 (d, J=7 Hz, 3H), 0,61 (d, J=7 Hz, 3H).

En el ESQUEMA DE REACCIÓN 3 a continuación se muestra el proceso para cambiar el grupo protector de amina R en un compuesto de fórmula I:

40

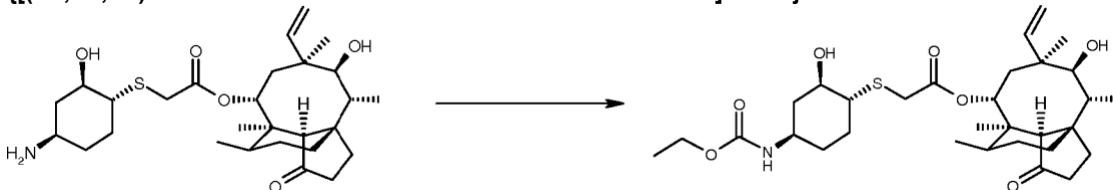
ESQUEMA DE REACCIÓN 3

En el ESQUEMA DE REACCIÓN 3 se representa el grupo protector de amino tal como se ha definido.

Ejemplo 15**14-O-[[1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-trifluoroacetyl)-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina**

5 Se cargó 1 g de 14-O-[[1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina y 10 ml de DCM en un matraz a ta y se agitó la mezcla obtenida. Se añadieron a la mezcla obtenida 0,41 ml de trietilamina gota a gota, seguido de 0,29 ml de anhídrido trifluoroacético y se agitó la mezcla obtenida hasta completar la reacción (según se determinó por TLC). Se lavó la mezcla obtenida con 10 ml de HCl 0,1 M seguido de 10 ml de NaHCO₃ 5 % y 10 ml de agua y se concentró a sequedad. Se obtuvieron 1,20 g de 14-O-[[1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-trifluoroacetyl)-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de una espuma.

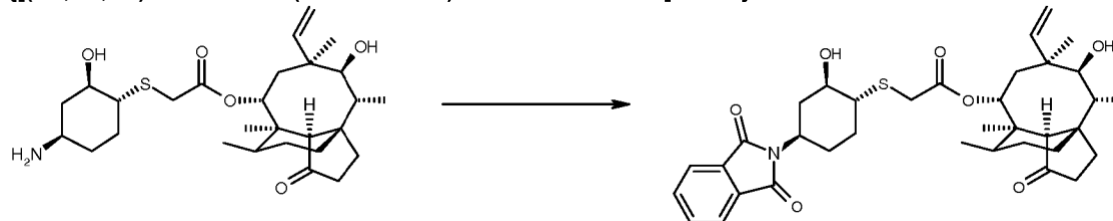
15 El patrón ¹H RMN confirmó la estructura de 14-O-[[1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-Trifluoroacetyl)-amino-2-hidroxiciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina. El patrón RMN para 14-O-[[1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-Trifluoroacetyl)-amino-2-hidroxiciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina se describe en el ejemplo 6.

Ejemplo 16**14-O-[[1R,2R,4R)-4-etoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina**

20 Se cargaron 1 g de 14-O-[[1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina y 10 ml de DCM en un matraz a ta y se agitó la mezcla obtenida. Se añadió a la mezcla obtenida 0,41 ml de trietilamina gota a gota, seguido de 0,2 ml de cloroformiato de etilo y se agitó la mezcla obtenida hasta completar la reacción (según se determinó por TLC). Se lavó la mezcla obtenida con 10 ml de HCl 0,1 M seguido de 10 ml de NaHCO₃ 5 % y 10 ml de agua y se concentró a sequedad.

25 Se obtuvieron 1,05 g de 14-O-[[1R,2R,4R)-4-etoxicarbonilamino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de espuma.

30 ¹H RMN (400 MHz, DMSO-d-6, ppm, entre otros) δ 7,07 (d, J=7,6 Hz, 1H), 6,16 (dd, J=17,6 Hz, J=11,0 Hz, 1H), 5,55 (d, 1H, J=8,0 Hz), 5,13 - 4,96 (m, 3H), 4,54 (d, 1H, J=5,8 Hz), 4,00 - 3,89 (q, 2H), 3,56 - 3,14 (m, 5H), 2,51 - 2,36 (m, 2H), 2,18 - 1,80 (m, 5H), 1,80 - 1,40 (m, 5H), 1,40 - 0,88 (m, 17H), 0,82 (d, J=6,8 Hz, 3H), 0,63 (d, J=5,8 Hz, 3H)

Ejemplo 17**14-O-[[1R,2R,4R)-2-hidroxi-4-(ftalimido-N-il)-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina**

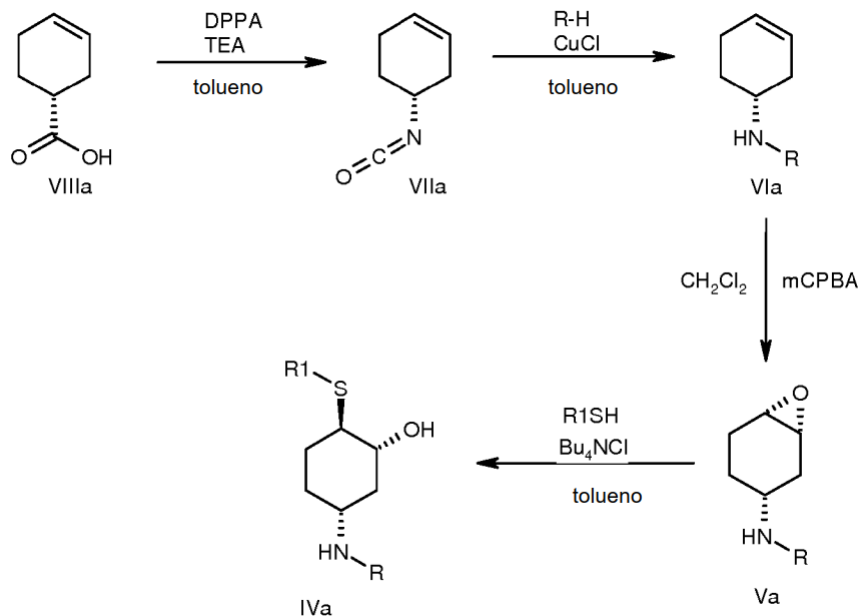
40 Se cargaron 1 g de 14-O-[[1R,2R,4R)-4-amino-2-hidroxi-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina y 40 ml de tolueno en un matraz a ta y se agitó la mezcla obtenida. Se añadieron a la mezcla obtenida 0,41 ml de trietilamina gota a gota, seguido de 0,30 g anhídrido ftálico y se calentó la mezcla obtenida a reflujo y se separó el agua en condiciones Dean-Stark, hasta que se completó la reacción (según se determinó por HPLC). Se lavó la mezcla obtenida con 10 ml de HCl 0,1 M seguido de 10 ml de NaHCO₃ 5 % y 10 ml de agua, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a sequedad.

45 Se obtuvieron 0,87 g de 14-O-[[1R,2R,4R)-2-hidroxi-4-(ftalimido-N-il)-ciclohexil-sulfanil]-acetil]-mutilina en forma de cristales blanco pálido.

¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆, ppm, entre otros) δ 7,9 - 7,7 (m, 4H), 6,17 (dd, J=17,6 Hz, J=11,2 Hz, 1H), 5,58 (d, 1H, j=7,8 Hz), 5,16 - 5,06 (m, 3H), 4,54 (d, 1H, J=6,0 Hz), 4,13 - 4,01 (m, 1H), 3,62 - 3,29 (m, 4H), 2,69 - 2,60 (m, 1H), 2,43 (m, 1H), 2,30 - 1,80 (m, 8H), 1,80 - 1,15 (m, 12H), 1,1 - 0,9 (m, 4H), 0,83 (d, J=6,6 Hz, 3H), 0,65 (d, J=5,8 Hz, 3H)

- 5 En el Esquema de reacción 4 a continuación, se resume el proceso para obtener el material de partida de fórmula IVa útil para la producción de compuestos de fórmula IIIa.

ESQUEMA DE REACCIÓN 4



- 10 En el ESQUEMA DE REACCIÓN 4, R representa un grupo protector de amino y R₁ representa un grupo protector de azufre y son como se ha definido.

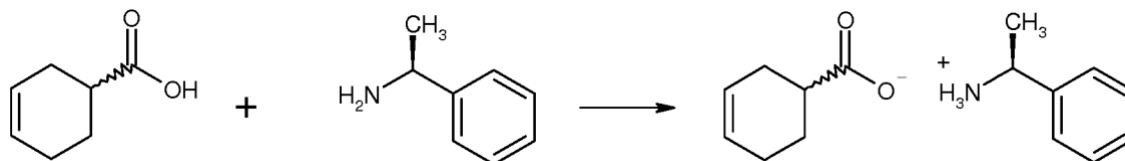
Ejemplo 18

- 15 **Carbotioato de {(1R,2R,4R)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexil}-benceno-**

Etapas A: 1(R) carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo

A. Formación de sal de ácido ciclohex-3-ene-1-carboxílico

20



Se cargaron 1000 g de ácido ciclohex-3-ene-1-carboxílico racémico en un matraz y se añadieron 5 volúmenes de acetona. Se agitó la mezcla obtenida, se calentó a entre 55 y 60 °C y se agitó durante 30 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 960,5 g de (S)-(-)-α-metilbencilamina en 2 volúmenes de acetona, gota a gota, durante aproximadamente 25 min. Se obtuvo una solución naranja transparente y se enfrió lentamente. La cristalización comenzó a 53 °C (al cabo de 30 min). La cristalización tuvo lugar al cabo de ~1h a 49 °C. Se enfrió la mezcla obtenida a ta durante 3 h más con un baño de hielo y se agitó a ta durante 1,5 h más. Se filtró el precipitado obtenido y se lavó con acetona. Se obtuvo una sal de α-metilbencilamina de ácido ciclohex-3-ene-1-carboxílico tal como se indica en el esquema de reacción anterior.

30

Rendimiento (húmedo): 1966,9 g; rotación óptica: 20[α]_D = +8,05° (c=1, MeOH)

B. Resolución de sal

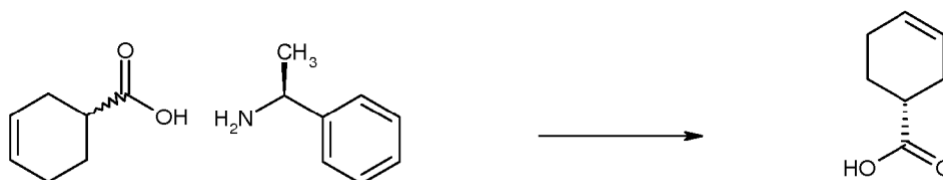
- 35 Se cargaron 1966,9 g (húmedo) de una sal, tal como se indica en la Etapa A y 3,8 volúmenes de acetona en un vaso de 10 l y se calentó la mezcla obtenida a entre 55 y 60 °C. Una vez disuelto el producto, se agitó la mezcla obtenida durante 15 min más y a continuación se enfrió lentamente a ta. La cristalización comenzó al cabo de 1 h 10 min (53 °C).

Se enfrió la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 4,5 h y se agitó a ta durante 1,5 h más. Se filtró el precipitado obtenido y se lavó con acetona. Se obtuvo una sal de α -metilbencilamina de ácido ciclohex-3-ene-1-carboxílico en la que estaba enriquecido el isómero R.

5 Rendimiento (húmedo): 1143 g; rotación óptica: $20[\alpha]_D = +20,65^\circ$ (c=1, MeOH)

Se repitió la etapa B hasta conseguir la rotación óptica requerida ($20[\alpha]_D > 40^\circ$).

C. Ácido ciclohex-3-ene-1(R)-carboxílico



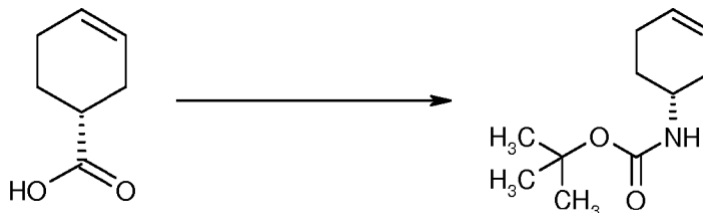
10 Se cargaron 579,6 g de sal (S)-(-)- α -metilbencilamina de ácido ciclohex-3-ene-1(R)-carboxílico y 5 volúmenes de MTBE en un matraz a 20-25 °C y se agitó la mezcla obtenida. Se añadieron a la mezcla obtenida 10 volúmenes de HCl 1 M, se agitó la mezcla obtenida durante 5-10 min y se formaron dos capas. Se separaron las capas obtenidas y se extrajo la capa acuosa con MTBE. Se combinaron las capas orgánicas obtenidas y se lavaron con salmuera. Se secó la fase orgánica obtenida sobre Na_2SO_4 , se filtró y se lavó la torta de filtro obtenida con MTBE. Se separó del filtrado obtenido el disolvente al vacío. Se obtuvo ácido ciclohex-3-ene-1(R)-carboxílico en forma de un aceite transparente.

20 Rendimiento: 301,78 g rotación óptica $20[\alpha]_D = +83,1^\circ$ (c=1, CHCl_3)

Es posible obtener ácido ciclohex-3-ene-1(R)-carboxílico de forma análoga al método descrito en Schwartz, H. M.; et al. JACS 1978, 100, 5199-5203.

D. Transposición de Curtius para obtener (R)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo

25



30 Se cargaron 305 g de ácido ciclohex-3-ene-1(R)-carboxílico y 10 volúmenes de tolueno en un matraz a entre 20-25 °C y se agitó la mezcla obtenida. Se añadieron a la mezcla obtenida 1,1 equivalentes de trietilamina gota a gota durante 15 min y se agitó la mezcla obtenida durante 20 min más. Se añadieron a la mezcla obtenida 1,05 equivalentes de DPPA gota a gota durante aproximadamente 20 min y se elevó la temperatura a 95 °C (reacción exotérmica) con vigoroso desprendimiento de gas. Se agitó la mezcla obtenida durante 15 min y se calentó a reflujo. Se siguió el progreso de la reacción según las medidas de ^1H RMN hasta completarse. Se enfrió la mezcla obtenida a 80 °C durante 35 min y se añadieron 5 equivalentes de *tert*-butanol gota a gota durante 10 min, seguido de 7,65 g de CuCl . Se templó la mezcla obtenida a 100 °C y se agitó durante 40 min más. Se siguió el progreso de la reacción según las medidas de ^1H RMN hasta completarse. Se enfrió la mezcla obtenida y se añadieron 5 volúmenes de solución acuosa saturada de NaHCO_3 durante 10 min. Se agitó la mezcla obtenida durante 20 min y se dejó durante toda la noche. Se filtró la mezcla obtenida y se lavó el sólido residual resultante dos veces con tolueno. Se separaron las capas orgánicas y se lavó la capa acuosa dos veces con tolueno. Se combinaron todas las capas orgánicas obtenidas, se lavaron con H_2O y se separó el disolvente al vacío. Se obtuvo carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enil-1(R) en forma de un sólido pardo claro. Rendimiento en bruto: 479,7 g

45 Se sometió a cromatografía el 1(R) carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo en bruto obtenido. Para 160 g de producto bruto se rellenó la columna con 1,5 Kg de gel de sílice utilizando 2,5 l de ciclohexano y se cubrió con arena. Se cargó el producto bruto en 0,8 l de EtOAc/ciclohexano 5 %. Se realizó la vaporización instantánea de la columna con el siguiente sistema de gradientes, recogiéndose una fracción por separado cada vez:

2 % EtOAc/ciclohexano (fracciones de 9 x 0,8 l)

5 % EtOAc/ ciclohexano (fracciones de 7 x 0,8 l)

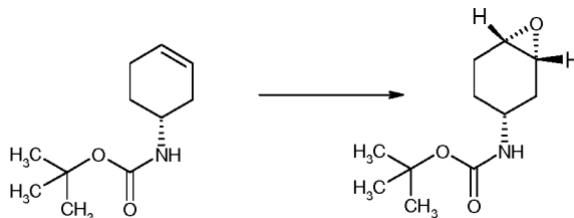
10 % EtOAc/ ciclohexano (fracciones de 4 x 0,8 l) rendimiento global tras la cromatografía: 81,3 % teórico

50

^1H RMN (CDCl_3 , 500 MHz, ppm): δ 5,64-5,67 (m, 1H), 5,56-5,60 (m, 1H), 4,54 (s, ancho, 1H), 3,77 (s, ancho, 1H), 2,32-2,34 (m, 1H), 2,07-2,17 (m, 2H), 1,81-1,87 (m, 2H), 1,48-1,56 (m, 1H), 1,44 (s, 9H)

¹³C RMN (CDCl₃, 500 MHz, ppm): δ 155,3, 126,9, 124,5, 79,1, 45,7, 32,1, 28,4, 23,6

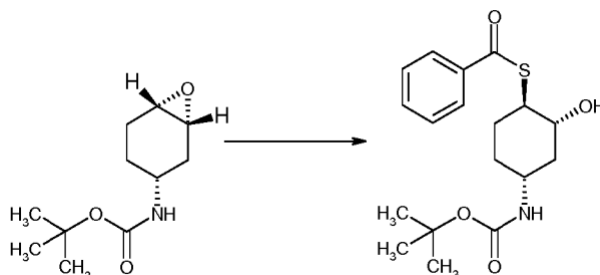
Etapa B: Carbamato de *tert*-butil (1*R*,3*R*,6*S*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo)



5 Se cargaron 4500 g de mCPBA (70%) y 24 l de CH₂Cl₂ en un vaso y se enfrió la mezcla obtenida a 15 °C. Se añadieron 3000 g de 1(*R*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo en 4,5 l de CH₂Cl₂ gota a gota durante aproximadamente 30 min manteniendo la temperatura a entre 15 y 25 °C. Se añadieron a la mezcla obtenida 1,5 l de CH₂Cl₂ y se agitó la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 1 h y se calentó a reflujo (40 °C) durante 2 h. Una vez completada la
10 reacción (control ¹H RMN), se enfrió la mezcla a entre -5 y 0 °C, se agitó durante toda la noche y se filtró el precipitado sólido y se lavó con CH₂Cl₂. Se lavó el filtrado resultante con solución acuosa 10 % de tiosulfato sódico para eliminar los peróxidos, solución acuosa 10 % de NaHCO₃ hasta que se alcanzó un pH>7 en la fase acuosa, y agua. Se concentró la fase orgánica obtenida a un volumen mínimo y se añadieron 15 l de tolueno y se concentró la mezcla obtenida de nuevo para obtener un volumen mínimo. Se repitió este proceso de reducción dos veces más. Se
15 obtuvieron 2,63 Kg (2,05 Kg rendimiento corregido en cuanto a mCBA y tolueno residual) de carbamato de *tert*-Butil (1*R*,3*R*,6*S*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-il) en forma de una solución en tolueno.

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃, ppm) δ 4,85 (d, J=7 Hz, 1H), 3,6 - 3,54 (m, 1H), 3,10 (s, ancho, 2H), 2,23 - 1,99 (m, 2H), 1,92 - 1,67 (m, 2H), 1,54 - 1,27 (m, 11H)

Etapa C: Benceno-carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo}

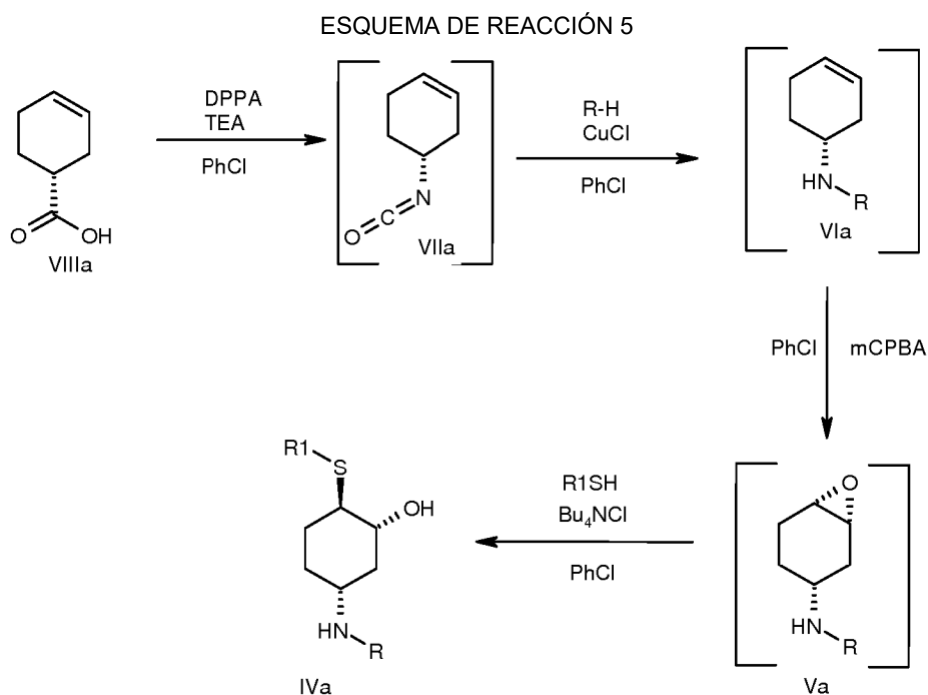


25 Se cargaron 2630 g (2050 g corregido) de carbamato de *tert*-butil (1*R*,3*R*,6*S*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo) en forma de una solución en tolueno (peso de la solución: 15,44 Kg) de la etapa B anterior y 3,1 l de tolueno en un vaso y se agitó la mezcla obtenida a entre 15-25 °C. Se añadieron a la mezcla obtenida 1,44 l de ácido tiobenzoico (10 %) gota a gota. Se mantuvo la temperatura por debajo de 30 °C. Además, se añadieron 1,9 l de tolueno y 85,3 g de monohidrato de cloruro de tetrabutilamonio en una porción, se detuvo el control de temperatura externo y se sometió la mezcla obtenida a reacción exotérmica. Se calentó la mezcla obtenida a entre 40-45 °C y se agitó durante 4 h. Una vez completada la reacción (control por TLC y ¹H RMN -), se enfrió la mezcla obtenida a entre 15 y 20 °C y se lavó dos
30 veces con solución acuosa 5 % de NaHCO₃ seguido de dos veces con H₂O. Se concentró la capa orgánica obtenida al vacío a un volumen mínimo. Se añadieron 10,25 l de tolueno y se volvió a concentrar la mezcla obtenida a un volumen mínimo. Se repitió el proceso y se determinó el peso en seco obtenido. Todos los volúmenes posteriores de la suspensión espesa son en relación a este peso. Se añadieron al residuo concentrado en bruto 0,5 volúmenes de tolueno con agitación y se agitó la mezcla obtenida a entre 15 y 25 °C durante 30 min.

35 Se añadieron a la mezcla obtenida 0,5 volúmenes de heptano gota a gota durante 15 min y se agitó la mezcla obtenida a entre 15 y 25 °C durante 40 min. Se filtró el sólido obtenido y se lavó con 0,25 volúmenes de tolueno-heptano (1:1), seguido de un lavado de la suspensión espesa con 0,5 volúmenes de tolueno-heptano (1:1), seguido de un lavado de desplazamiento con 0,25 volúmenes de tolueno-heptano (1:1). Este procedimiento sirvió para reducir la cantidad de regioisómero no deseado y ácido tiobenzoico a cantidades no detectables (por ¹H RMN). Se aisló el sólido obtenido y se secó al vacío a 30 °C. Se obtuvieron 1090 g de benceno-carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo} en forma de un sólido blanco.

45 ¹H RMN (200 MHz, DMSO- d₆, ppm) δ 7,92 - 7,87 (m, 2H), 7,71 - 7,63 (m, 1H), 7,58 - 7,49 (m, 2H), 6,85 (d, J=8 Hz, 1H), 5,11 (d, J=5,6 Hz, 1H), 3,49 - 3,25 (m, 3H), 2,12 - 1,95 (m, 2H), 1,79 - 1,69 (m, 1H), 1,54 - 1,14 (m, 12H)

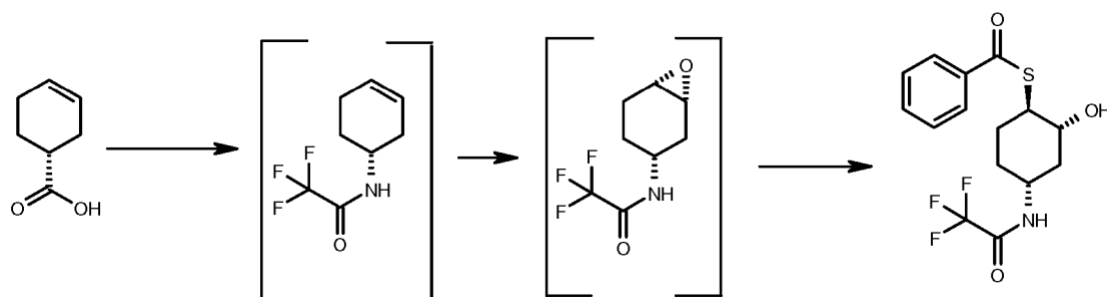
En el ESQUEMA DE REACCIÓN 5, a continuación, se muestra un proceso alternativo (telescópico) para obtener el material de partida de la fórmula IVa, que es útil para la producción de compuestos de fórmula IIIa:



En el que R representa un grupo protector amino y R₁ representa un grupo protector azufre y son como se ha definido.

5 **Ejemplo 19**

Benceno-carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(2,2,2-trifluoroacetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo}



Etapa A: N-(Ciclohex-3-en-1(*R*)-il)-2,2,2-trifluoro-acetamida

10 Se cargaron 50 g de ácido 3-ciclohexeno-1(*R*)-carboxílico y 425 ml de clorobenceno en un matraz a 20-25 °C y se agitó la mezcla obtenida. Se añadieron a la mezcla obtenida 110 ml de trietilamina gota a gota seguido de 25 ml de clorobenceno. Se templó la mezcla obtenida a entre 78 y 82 °C y se añadieron 109,2 g de DPPA controlando la dosis, manteniendo la temperatura a entre 80 y 90 °C y el desprendimiento de gas constante y se proporcionó un aclarado acorde con 20 ml de clorobenceno. Se agitó la mezcla obtenida a entre 78 y 82 °C durante 1 h hasta completarse, según se determinó por TLC. Se enfrió la mezcla obtenida a aproximadamente 70 °C y se añadieron 226 g de ácido trifluoroacético en 34 ml de clorobenceno gota a gota manteniendo la temperatura a entre 70 y 80 °C, seguido de 1,57 g de CuCl y un aclarado acorde de 25 ml clorobenceno. Se agitó la mezcla obtenida a entre 90 y 95 °C durante 2 h y se siguió la reacción por TLC hasta completarse. Se enfrió la mezcla obtenida a entre 15 y 25 °C y se añadieron 375 ml de solución acuosa 20 % de K₂CO₃ y se agitó la mezcla obtenida durante 15 min. Se separaron las capas obtenidas y se añadieron a la capa orgánica superior obtenida 375 ml de solución acuosa 20 % de K₂CO₃. Se filtró la mezcla obtenida a través de celite para eliminar el sólido residual y se lavó el celite con 50 ml de clorobenceno. Se separaron las capas obtenidas. Se volvieron a extraer las capas acuosas inferiores combinadas obtenidas con 250 ml de clorobenceno y se lavaron las fases orgánicas combinadas obtenidas con 500 ml de ácido fosfórico 0,5 M. Se volvió a extraer la capa acuosa obtenida con 300 ml de clorobenceno y se lavaron las fases orgánicas combinadas con 500 ml de solución acuosa 5 % de NaCl.

Se llevó a cabo un ensayo de pérdida de peso para determinar el contenido en N-(ciclohex-3-en-1(*R*)-il)-2,2,2-trifluoro-acetamida para su uso en la etapa B de epoxidación a continuación.

La solución de clorobenceno obtenida contenía 69,52 g de N-(ciclohex-3-en-1(*R*)-il)-2,2,2-trifluoro-acetamida.

¹H RMN (200 MHz, d₆-DEMO, ppm) δ 9,33 (d, 1H), 5,69 - 5,56 (m, 2H), 3,82 (s, ancho, 1H), 2,25 - 1,96 (m, 4H), 1,81 - 1,74 (m, 1H), 1,66 - 1,58 (m, 1H)

EM (ESI, g/mol): m/z 194 [M+H]⁺

5

Etapa B: 2,2,2-trifluoro-N-(1R,3R,6S)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-il)-acetamida

Se cargaron 106,5 g de ácido *m*-cloroperbenzoico (70 %) por porciones en un vaso que contenía la solución enfriada (10-15 °C) de 69,5 g del N-(ciclohex-3-en-1(*R*)-il)-2,2,2-trifluoroacetamida de etapa A manteniendo la temperatura <30 °C, y se aclaró con 69,5 ml de clorobenceno. Se agitó la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C durante 1 h y se siguió la reacción por TLC hasta completarse. Una vez completada la reacción, se enfrió la mezcla obtenida a entre 0 y -5 °C, se agitó durante 30 min y se filtró el precipitado sólido obtenido (*m*CBA) y se lavó con 2 x 34,8 ml de clorobenceno. Se lavó el filtrado resultante con 347,6 ml de solución 10 % de tiosulfato sódico para eliminar los peróxidos y se volvió a extraer la capa acuosa resultante con 208,6 ml de clorobenceno. Se lavaron las capas orgánicas combinadas con 347,6 ml de solución 5 % de bicarbonato sódico para asegurar un pH > 7 de la fase acuosa y se volvió a extraer la capa acuosa resultante con 208,6 ml de clorobenceno. Se lavaron las capas orgánicas combinadas con 347,6 ml de agua.

10

15

20

Se llevó a cabo un ensayo de pérdida de peso para determinar el contenido en 2,2,2-trifluoro-N-(1R,3R,6S)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-il)-acetamida. La solución de clorobenceno obtenida contenía 58,64 g de 2,2,2-trifluoro-N-(1R,3R,6S)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-il)-acetamida que contenía aproximadamente 11% de anti (*trans*) epóxido y se utilizó la solución orgánica para la etapa C a continuación (apertura de anillo).

25

¹H RMN (400 MHz, d₆-DEMO, ppm) δ 9,21 (d, J=7,2 Hz, 1H), 3,80 - 3,52 (m, 1H), 3,10 - 3,09 (m, 2H), 2,22 - 1,66 (m, 4H), 2,03 - 2,10 (m, 1H), 1,91 - 1,78 (m, 1H), 1,76 - 1,68 (m, 1H), 1,52 - 1,30 (m, 2H) EM (ESI, g/mol): m/z 208 [MH]⁺

Etapa C: Benceno-carbotioato de {(1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-trifluoro-acetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo}

30

Se concentró la solución de clorobenceno de la etapa B que contenía 58,64 g de 2,2,2-trifluoro-N-(1R,3R,6S)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-il)-acetamida a aproximadamente 5 volúmenes sobre la base del epóxido. Se desgasificó el concentrado obtenido a 15-25 °C con argón durante 30 min y se ajustó la temperatura a entre 15 y 20 °C. Se añadieron a la mezcla obtenida 58,1 g de ácido tiobenzoico (90 %) gota a gota asegurando una temperatura por debajo de 30 °C. Se añadieron a la mezcla obtenida 17,6 ml de clorobenceno en el vaso como un aclarado acorde y se añadieron 2,49 g de monohidrato de cloruro de tetrabutilamonio en porciones a <30 °C. Se calentó la mezcla obtenida a entre 40-45 °C, se agitó y se siguió la reacción por TLC hasta completarse. Una vez completada la reacción, se enfrió la mezcla obtenida a entre 0 y 5 °C, se agitó durante 1 h y se filtró y se lavó la torta de filtro obtenida con 2 x 58,64 ml de clorobenceno. Se secó el sólido obtenido al vacío a < 40 °C. Se obtuvieron 45,5 g de benceno-carbotioato de {(1R,2R,4R)-4-[(2,2,2-trifluoroacetil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo} en forma de un sólido.

35

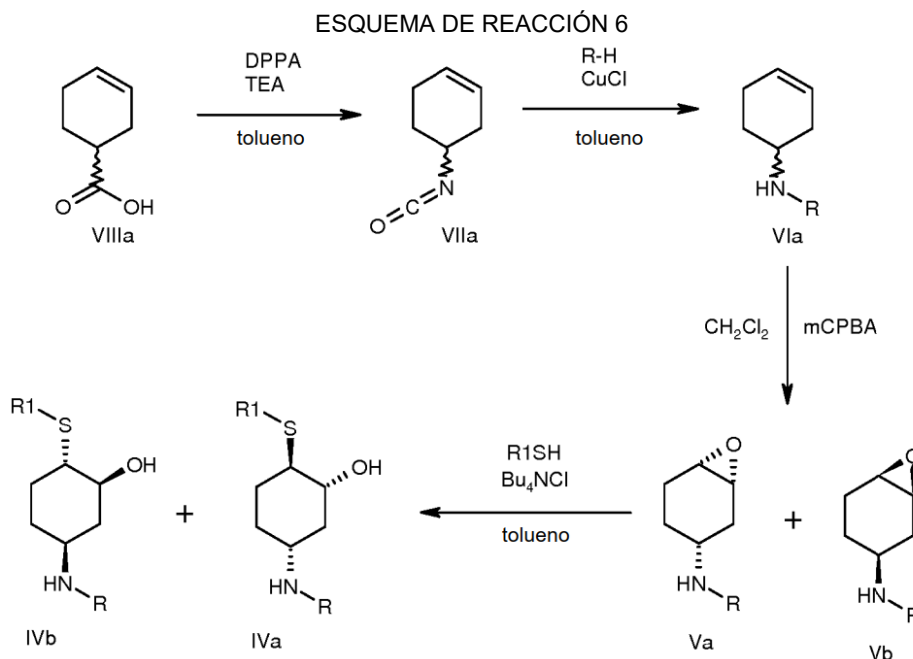
40

¹H RMN (400 MHz, DMSO- d₆, ppm) δ 9,38 (s, 1H), 7,91 (m, 2H), 7,68 (m, 1H), 7,55 (m, 2H), 5,23 (s, 1H), 3,80 (m, 1H), 3,55 - 3,49 (m, 1H), 3,41 - 3,34 (m, 1H), 2,13 - 2,03 (m, 2H), 1,82 - 1,79 (m, 1H), 1,60 - 1,38 (m, 3H).

EM (ESI, g/mol): m/z 348,0 [M+H]⁺

45

En el ESQUEMA DE REACCIÓN 6, a continuación, se resume el proceso para obtener el material de partida de la mezcla de compuesto de fórmula IVa con un compuesto de fórmula IVb útil para la producción de la mezcla del compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb:

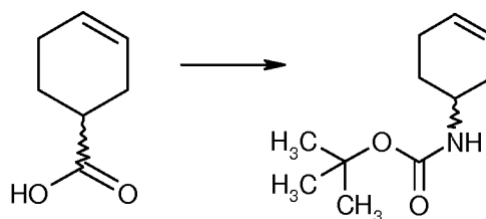


en el que R representa un grupo protector amino y R₁ representa un grupo protector de azufre y es como se ha definido.

5 Ejemplo 20

Benceno-carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo}- y benceno-carbotioato de {(1*S*,2*S*,4*S*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo}

10 Etapa A: 1(*R*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo y 1(*S*)-carbamato de *tert*-Butil ciclohex-3-enilo



Se cargaron 50,0 g de ácido 3-ciclohexen-1-carboxílico y 500 ml de tolueno en un matraz de 2 l a 20-25 °C, se agitó la mezcla obtenida y se añadieron 60,7 ml de trietilamina gota a gota durante 15 min seguido de la adición gota a gota de 89,7 ml de DPPA durante 20 min (desprendimiento de gas, exotérmica a ~50 °C). Se añadieron a la mezcla obtenida 50 ml de tolueno como aclarado acorde. Se calentó la mezcla obtenida a reflujo y se agitó hasta completar la reacción según se determinó por TLC y ¹H RMN. Se demostró que la reacción se había completado al cabo de 1 h. Se enfrió la mezcla obtenida a 80 °C y se añadieron 186 ml de *t*-BuOH gota a gota durante 10 min, seguido de 1,26 g de CuCl y se calentó a reflujo la mezcla obtenida. Se siguió la reacción por ¹H RMN, y se demostró que se había completado al cabo de 1 h. Se enfrió la mezcla obtenida a entre 20 y 25 °C y se añadieron 250 ml de solución saturada de NaHCO₃ durante 5 a 10 min. Se agitó la mezcla obtenida durante 30 min, se filtró para eliminar el sólido residual y se aclaró el sólido con 25 ml de tolueno. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con 2 x 150 ml de tolueno. Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con 150 ml de agua y se concentraron al vacío. Se obtuvieron 79,8 g de una mezcla de 1(*R*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo y 1(*S*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo en forma de un sólido pardo.

Rotación óptica: [α]_D (CHCl₃) = 0°

Purificación por cromatografía de columna:

Se sometió a purificación la mezcla en bruto de 1(*R*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo y 1(*S*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo por cromatografía de columna (eluyente: ciclohexano/EtOAc 9:1).

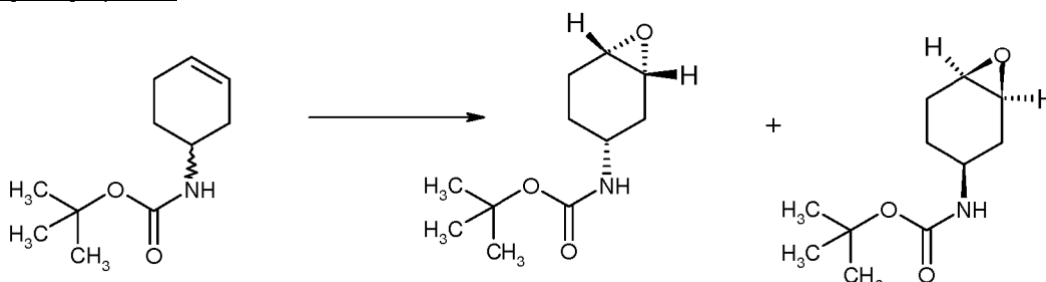
Se identificaron las fracciones limpias requeridas y se combinaron. La concentración al vacío dio el producto requerido. Se obtuvieron 60,88 g de una mezcla de 1(*R*)-carbamato de *tert*-Butil ciclohex-3-enilo con 1(*S*)-carbamato de *tert*-

Butil ciclohex-3-enilo en forma de un sólido blanco.

Rotación óptica: $[\alpha]_D$ (CHCl₃) = 0°

- 5 ¹H RMN (200 MHz, CDCl₃, ppm) δ 5,69 - 5,53 (m, 2H), 4,55 (s, ancho, 1H), 3,76 (s, ancho, 1H), 2,41 - 2,30 (m, 1H), 2,12 - 2,08 (m, 2H), 1,91 - 1,76 (m, 2H), 1,6 - 1,48 (m, 1H), 1,43 (s, 9H)

Etapa B: carbamato de *tert*-butil (1*R*,3*R*,6*S*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo) y carbamato de *tert*-Butil (1*S*,3*S*,6*R*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo)



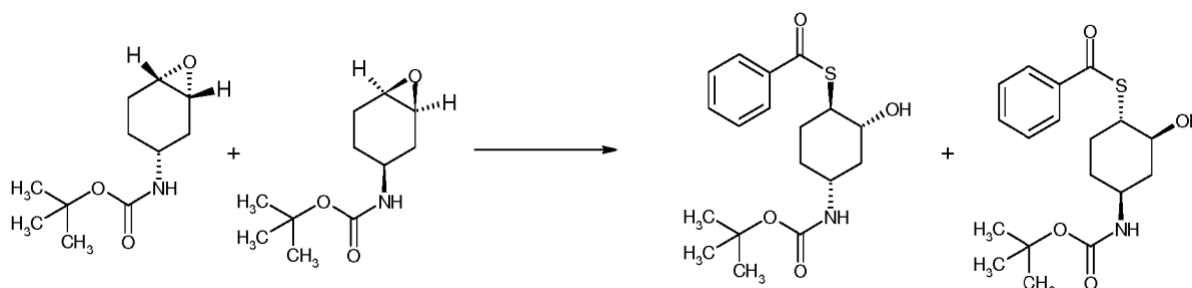
- 10 Se cargaron 45 g de ácido *m*-cloroperbenzoico (70 %) y 240 ml de CH₂Cl₂ en un matraz de 1 l y se enfrió la mezcla obtenida a entre 10 y 15 °C. Se añadieron a la mezcla obtenida 30,0 g de 1(*R*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo y 1(*S*)-carbamato de *tert*-butil ciclohex-3-enilo en 45 ml de CH₂Cl₂ gota a gota durante aproximadamente 30 min asegurando una temperatura por debajo de 25 °C. Se añadieron a la mezcla obtenida 15 ml de CH₂Cl₂ como aclarado acorde y se agitó la mezcla obtenida a ta durante 1 h, se calentó a reflujo (40 °C) durante 2 h y se siguió por HPLC y TLC hasta completarse la reacción. Una vez completada la reacción, se enfrió la mezcla obtenida a entre 0 y 5 °C, se agitó durante 30 min y se filtró el precipitado sólido (mCBA) obtenido y se lavó a través de 2 x 15 ml de CH₂Cl₂. Se lavó el filtrado resultante con 3 x 150 ml de solución acuosa 10 % de tiosulfato sódico para eliminar los peróxidos, seguido de 3 x 150 ml de solución saturada de bicarbonato sódico para asegurar un pH > 7 (pH registrado = 8-9), seguido de 2 x 150 ml de agua. Se concentró la capa orgánica obtenida, se añadieron 150 ml de tolueno y se concentró de nuevo la mezcla obtenida. Se añadieron al concentrado obtenido 150 ml de tolueno, se concentró la mezcla obtenida a sequedad, se añadió tolueno a aproximadamente 2 volúmenes y se mantuvo la mezcla obtenida en un refrigerador antes de su uso en la siguiente etapa.

- 25 Se obtuvieron 25,73 g de una mezcla de carbamato de *tert*-butil (1*R*,3*R*,6*S*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo) y carbamato de *tert*-butil (1*S*,3*S*,6*R*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo) (se evaporó todo el lote a sequedad, se pesó y se determinó el contenido de epóxido, mCBA y tolueno por análisis RMN). El material seguía conteniendo mCBA y tolueno.

- 30 Le relación sin:anti es 100:0 determinada por ¹H RMN.
Rotación óptica: $[\alpha]_D$ (CHCl₃) = 0°

¹H RMN (200 MHz, CDCl₃, ppm) δ 4,82 (s, ancho, 1H), 3,63 - 3,54 (m, 1H), 3,13 (s, 2H) 2,26 - 2,03 (m, 2H), 1,96 - 1,70 (m, 2H), 1,49 - 1,28 (m, 11H)

- 35 Etapa C: benceno-carbotioato de {(1*R*,2*R*,4*R*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo} y benceno-carbotioato de {(1*S*,2*S*,4*S*)-4-[(*tert*-butoxicarbonil)-amino]-2-hidroxi-ciclohexilo}



- 40 Se cargó la solución producto obtenida en la Etapa B que contenía 20,1 g de carbamato de *tert*-Butil (1*R*,3*R*,6*S*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo) y carbamato de *tert*-butil (1*S*,3*S*,6*R*)-(7-oxa-biciclo[4.1.0]hept-3-ilo) y 60 ml de tolueno en un matraz, se agitó la mezcla obtenida a 15-25 °C se fundieron 15 ml de ácido tiobenzoico y se cargaron gota a gota en la mezcla obtenida asegurando una temperatura por debajo de 30 °C. Se cargaron en la mezcla obtenida 18 ml de tolueno como aclarado acorde, se añadieron 0,8 g de monohidrato de cloruro de tetrabutilamonio en una porción, se detuvo el control de la temperatura externa y se dejó que desprendiera calor la mezcla. Se calentó la mezcla obtenida a 40-45 °C y se siguió la mezcla de reacción por TLC hasta completarse. Una vez completada la reacción (3 h), se

ES 2 909 198 T3

- 5 enfrió la mezcla obtenida a t_a y se lavó dos veces con 2 x 101 ml de solución 5 % de bicarbonato sódico seguido de 2 x 101 ml de agua. Se concentró al vacío la capa orgánica obtenida para dar el mínimo volumen. Se cargaron después 101 ml de tolueno y se volvió a concentrar el lote hasta un mínimo volumen. Se repitió este proceso y se volvieron a añadir otros 101 ml de tolueno a la mezcla obtenida y se concentró la mezcla a ~40 ml. Se analizó el contenido en agua por KF (0,04 %). Se añadieron a la mezcla obtenida 101 ml de tolueno y se concentró la mezcla obtenida a sequedad.

Rendimiento del material en bruto: 35,29 g.

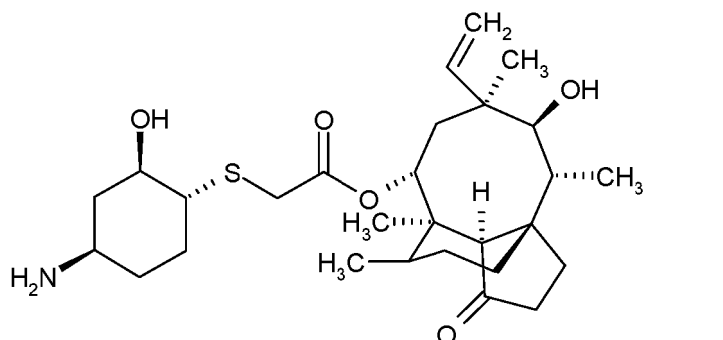
- 10 Se añadieron al material en bruto obtenido 17,6 ml de tolueno y se enfrió la mezcla obtenida a entre 10 a 15 °C con agitación, momento en el cual precipitó un sólido. Se agitó la suspensión espesa obtenida durante 45 min. Se añadieron a la mezcla obtenida 17,6 ml de heptano gota a gota y se agitó la mezcla obtenida durante 1 h. Se filtró la mezcla obtenida. Se presionó el sólido obtenido y se dio un lavado de desplazamiento con tolueno-heptano (1:1, 8,8 ml), seguido de un lavado de la suspensión espesa con tolueno-heptano (1:1, 17,6 ml) lo que redujo la cantidad del regioisómero no deseado a una cantidad no detectable por análisis RMN. El sólido obtenido se secó al vacío a ≤ 40 °C.
- 15 Se obtuvieron 8,24 g de una mezcla de benceno-carbotioato de $\{(1R,2R,4R)\text{-}4\text{-}[(\textit{terc}\text{-butoxicarbonil})\text{-amino}]\text{-}2\text{-hidroxiciclohexil}\}$ con $\{(1S,2S,4S)\text{-}4\text{-}[(\textit{terc}\text{-butoxicarbonil})\text{-amino}]\text{-}2\text{-hidroxiciclohexil}\}$ en forma de un sólido blanquecino.

20 Rotación óptica: $[\alpha]_D$ (CHCl_3) = 0°

^1H RMN (200 MHz, DMSO- d_6 , ppm) δ 7,91 - 7,87 (m, 2H), 7,70 - 7,50 (m, 3H), 6,85 (d, J=6 Hz, 1H), 5,13 (d, J=5,6 Hz, 1H), 3,50 - 3,26 (m, 3H), 2,13 - 1,96 (m, 2H), 1,79 - 1,69 (m, 1H), 1,54 - 1,15 (m, 12H)

REIVINDICACIONES

1. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I



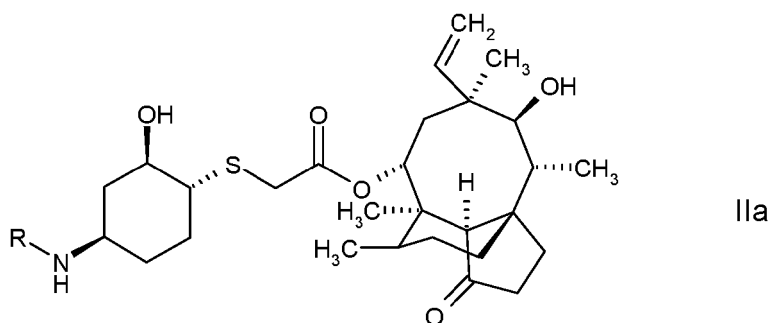
5

en forma de un estereoisómero simple en forma cristalina, que comprende

desproteger el grupo amina

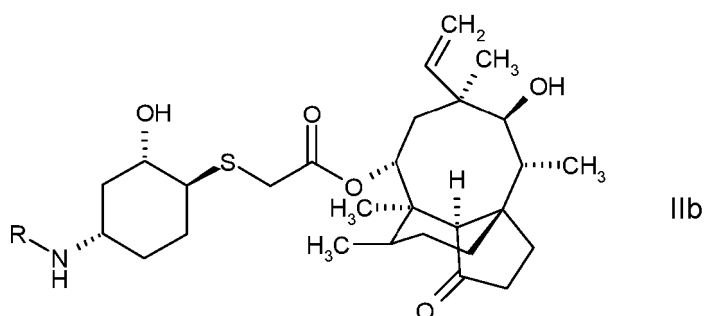
10

ya sea en un compuesto de fórmula IIa



15 o

en una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb



20

en la que R es un grupo protector de amina, y

aislar un compuesto de fórmula I obtenido en forma de un solo diastereómero en forma cristalina, ya sea directamente de la mezcla de reacción o mediante recristalización en un disolvente orgánico, aislando el compuesto de fórmula I en forma de un solo diastereómero en forma cristalina comprende una de las siguientes etapas:

25

a) tratar una solución de un compuesto de fórmula I en una única forma estereoisomérica obtenida en el disolvente orgánico polar CH_2Cl_2 , con un antidisolvente seleccionado entre diisopropiléter (DIPE) o *terc*-butilmetiléter (MTBE), preferentemente DIPE

30

b) tratar una solución de un compuesto de fórmula I en una sola forma estereoisomérica obtenida en el disolvente orgánico polar CH_2Cl_2 , previa concentración con un alcohol, tal como n-butanol;

c) recoger un material en bruto aislado de un compuesto de fórmula I en una única forma estereoisomérica, en un éter, por ejemplo tetrahidrofurano (THF), y opcionalmente tratándolo con un antidisolvente seleccionado entre DIPE o MTBE;

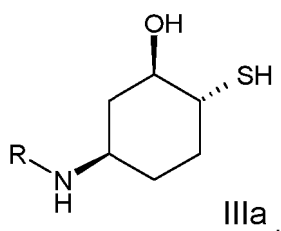
5 d) obtener un compuesto de fórmula I en forma de un único diastereómero en forma cristalina mediante (re-)cristalización en un disolvente orgánico, siendo el disolvente orgánico un alcohol, tal como n-butanol.

2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende además la etapa de

10 e) recristalización de un compuesto cristalino obtenido a partir de un alcohol, tal como n-butanol.

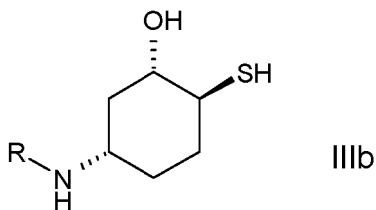
3. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde un compuesto de fórmula IIa, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb se obtiene mediante el acoplamiento

15 o bien de un compuesto de fórmula IIIa



o

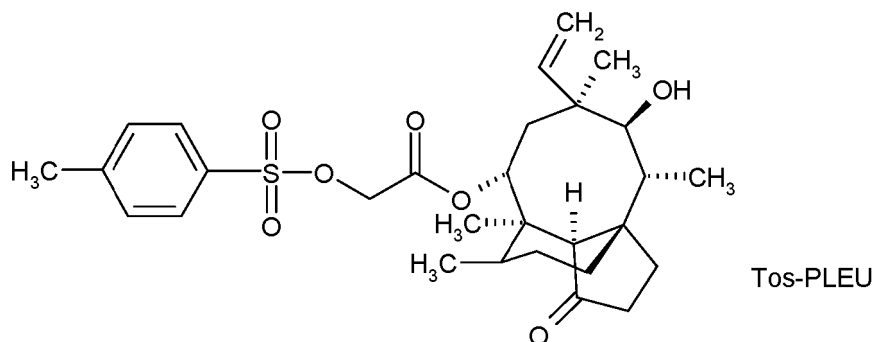
20 de una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb



25 respectivamente

en la que R es como se define en la reivindicación 1,

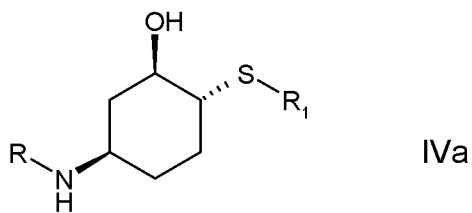
30 con una 14-O-AKT-acetil-mutilina activada, en la que AKT es un grupo activador, opcionalmente mesilo, besilo, tosilo u O-AKT es halógeno, opcionalmente 14-O-AKT-acetil-mutilina es un compuesto de fórmula



35 y aislar un compuesto de fórmula IIa o una mezcla de un compuesto de fórmula IIa con un compuesto de fórmula IIb, respectivamente, obtenidos a partir de la mezcla de reacción.

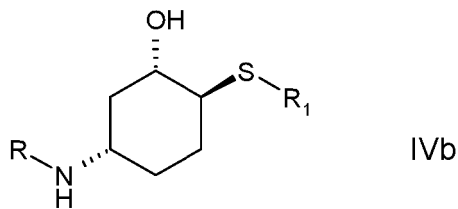
4. Un proceso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que se obtiene un compuesto de fórmula IIIa, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb desprotegiendo la función tiol

40 ya sea en un compuesto de fórmula IVa



o en una mezcla del compuesto IVa con un compuesto de fórmula IVb

5



respectivamente

10 en la que R es como se define en la reivindicación 1 y R₁ es un grupo protector de tior, y aislar o bien un compuesto de fórmula IIIa, o una mezcla de un compuesto de fórmula IIIa con un compuesto de fórmula IIIb, respectivamente obtenidos de la mezcla de reacción.

15 5. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende además la etapa de convertir el compuesto de fórmula I en una sal mediante la adición de un ácido, y aislar el compuesto en forma de sal, opcionalmente una sal cristalina.