

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 974 758**

51 Int. Cl.:

C07F 5/02 (2006.01)

C07F 5/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.03.2005** **E 21197526 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.01.2024** **EP 4008721**

54 Título: **Síntesis de compuestos de ésteres y ácidos borónicos**

30 Prioridad:

30.03.2004 US 55753504 P

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

01.07.2024

73 Titular/es:

**MILLENNIUM PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
40 Landsdowne Street
Cambridge, MA 02139, US**

72 Inventor/es:

**PICKERSGILL, FRASER I.;
BISHOP, JOHN;
LO, YOUNG;
CHUI, FANG-TING y
KULKARNI, VITHALANAND R.**

74 Agente/Representante:

GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo

ES 2 974 758 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

Síntesis de compuestos de ésteres y ácidos borónicos

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a la síntesis de compuestos de ésteres y ácidos borónicos.

10 Antecedentes de la invención

10

Los compuestos de ácido borónico y de ésteres muestran una variedad de actividades biológicas farmacéuticamente útiles. Shenvi *et al.*, la Patente de los Estados Unidos N.º 4,499,082 (1985), divulga que los ácidos borónicos peptídicos son inhibidores de ciertas enzimas proteolíticas. Kettner y Shenvi, la Patente de los Estados Unidos N.º 5,187,157 (1993), la Patente de los Estados Unidos N.º 5,242,904 (1993), y la Patente de los Estados Unidos N.º 5,250,720 (1993), describen una clase de ácidos borónicos peptídicos que inhiben las proteasas de tipo tripsina. Kleeman *et al.*, la Patente de los Estados Unidos N.º 5,169,841 (1992), divulga ácidos borónicos peptídicos modificados N-terminalmente que inhiben la acción de la renina. Kinder *et al.*, la Patente de los Estados Unidos N.º 5,106,948 (1992), divulga que ciertos compuestos de ácido borónico tripéptido inhiben el crecimiento de las células cancerosas.

20

Más recientemente, los compuestos de ácido borónico y ésteres se han mostrado especialmente prometedores como inhibidores del proteasoma, una proteasa multicatalítica responsable de la mayor parte del recambio proteico intracelular. Ciechanover, *Cell*, 79: 13 a 21 (1994), divulga que el proteasoma es el componente proteolítico de la vía ubiquitina-proteasoma, en la que las proteínas se dirigen a la degradación por conjugación con múltiples moléculas de ubiquitina. Ciechanover también divulga que la vía de la ubiquitina-proteasoma desempeña un papel clave en diversos procedimientos fisiológicos importantes.

25

Adams *et al.*, la Patente de los Estados Unidos N.º 5,780,454 (1998), la Patente de los Estados Unidos N.º 6,066,730 (2000), la Patente de los Estados Unidos N.º 6,083,903 (2000), la Patente de los Estados Unidos N.º 6,297,217 (2001), la Patente de los Estados Unidos N.º 6,548,668 y la Patente de los Estados Unidos N.º 6,617,317 (2003), que se incorporan por referencia en su totalidad, describen compuestos péptidos de ésteres y ácidos borónicos útiles como inhibidores del proteasoma. Las referencias también describen el uso de compuestos de ésteres y ácidos borónicos para reducir la tasa de degradación de proteínas musculares, para reducir la actividad de NF- κ B en una célula, para reducir la tasa de degradación de la proteína p53 en una célula, para inhibir la degradación de ciclinas en una célula, para inhibir el crecimiento de una célula cancerosa, para inhibir la presentación de antígenos en una célula, para inhibir la adhesión celular dependiente de NF- κ B y para inhibir la replicación del VIH.

30

35

Albanell y Adams, *Drugs of the Future* 27: 1079 a 1092 (2002), divulga que uno de estos péptidos inhibidores del proteasoma del ácido borónico, bortezomib (ácido N-2-pirazincarbonil-L-fenilalanina-L-leucinaborónico), muestra una actividad antitumoral significativa en modelos de xenoinjertos de tumores humanos y está siendo evaluado clínicamente. Richardson *et al.*, *New Engl. J. Med.*, 348:2609 (2003), informa de los resultados de un estudio de fase 2 de bortezomib, que muestra su eficacia en el tratamiento del mieloma múltiple recidivante y refractario.

40

45

Los estudios de los inhibidores de proteasas de ácido borónico han avanzado mucho gracias al desarrollo de la química para la preparación de compuestos de ácido borónico funcionalizados, particularmente los ácidos alfa-halo- y alfa-aminoborónicos. Matteson y Majumdar, *J. Am. Chem. Soc.*, 102:7590 (1980), divulga un procedimiento para preparar ésteres alfa-cloroborónicos por homologación de ésteres borónicos, y Matteson y Ray, *J. Am. Chem. Soc.*, 102:7591 (1980), informa de que el control quiral de la reacción de homologación se puede lograr mediante el uso de ésteres borónicos de pinandiol. También se ha informado de la preparación de compuestos de ácido alfa-aminoborónico y de ésteres a partir de los correspondientes ésteres alfa-cloroborónicos (Matteson *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 103:5241 (1981) Shenvi, la Patente de los Estados Unidos N.º 4,537,773 (1985)).

50

55

Matteson y Sadhu, la Patente de los Estados Unidos N.º 4,525,309 (1985), describe un procedimiento mejorado para la homologación de ésteres borónicos por reordenación del complejo intermedio de boro "nato" en presencia de un catalizador de ácido de Lewis. Se ha informado que el ácido Lewis promueve la reacción de reordenamiento y minimiza la epimerización en el átomo de carbono alfa. Sin embargo, para obtener resultados óptimos es necesario excluir rigurosamente el agua y controlar cuidadosamente la estequiometría del ácido de Lewis. Estas características hacen que la reacción sea difícil de llevar a cabo con éxito a escala de producción y limitan la disponibilidad de compuestos de ésteres y ácidos borónicos de importancia farmacéutica, tal como bortezomib. Por lo tanto, sigue existiendo la necesidad en la técnica de mejorar los procedimientos para la producción a gran escala de compuestos de ésteres y ácidos borónicos.

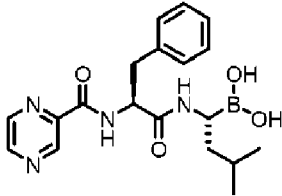
60

65

Descripción de la invención

La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

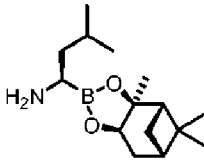
- 5 En un aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para formar un compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido bórico del mismo:



(XIV)

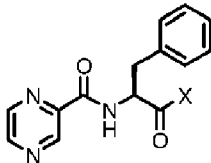
- 10 que comprende las etapas:

(A) acoplar una sal de adición de ácido trifluoroacético de un compuesto de la fórmula (XVIII):



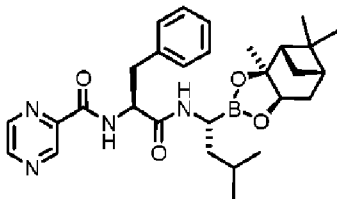
(XVIII)

- 15 con un compuesto de la fórmula (XIXa):



(XIXa)

- 20 en donde la fracción -C(O)X es un éster O-(N-hidroxisuccinimida) generado *in situ* por medio del contacto de N-(2-pirazinocarbonilo)-L-fenilalanina con dicitclohexilcarbodiimida y N-hidroxisuccinimida, para formar un compuesto de la fórmula (XXIII):



(XXIII);

- 25 y

(B) desproteger la fracción de ácido borónico para formar un compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo.

- 30 En algunas realizaciones, la etapa de desprotección (B) del ácido borónico se lleva a cabo en presencia de un aceptor de ácido borónico orgánico (opcionalmente ácido 2-metilpropanoborónico), un alcano inferior (opcionalmente metanol), un disolvente de hidrocarburo C₅₋₈ (opcionalmente hexano) y un ácido mineral acuoso (opcionalmente HCl).

- 35 En algunas realizaciones, la etapa de desprotección (B) del ácido borónico se lleva a cabo en presencia de ácido 2-metilpropanoborónico, metanol, hexano y HCl.

En algunas realizaciones, la etapa de acoplamiento (A) comprende:

- 40 (i) proporcionar una solución de (1R)-(S)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato y N-hidroxisuccinimida, seguida por la adición de dicitclohexilcarbodiimida para formar una suspensión;

(ii) proporcionar una solución de N-(2-pirazinocarbonilo)-L-fenilalanina y añadirle N-metilmorfolina;

(iii) añadir la solución resultante de la etapa ii) a la suspensión resultante de la etapa i) y, opcionalmente, ajustar la suspensión resultante a pH 7 por medio de la adición de N-metilmorfolina; y

5

En algunas realizaciones, la etapa de desprotección con ácido borónico (B) se lleva a cabo en presencia de un aceptor orgánico de ácido borónico (opcionalmente ácido 2-metilpropaneborónico), un alcohol inferior (opcionalmente metanol), un disolvente hidrocarbonado C₅₋₈ (opcionalmente hexano) y un ácido mineral acuoso (opcionalmente HCl).

10

En algunas realizaciones, la etapa de desprotección (B) del ácido borónico comprende las etapas:

(i) proporcionar una mezcla bifásica que comprende el compuesto de la fórmula (XXIII), un aceptor de ácido borónico orgánico, un alcano inferior, un disolvente de hidrocarburo C₅₋₈ y un ácido mineral acuoso;

15

(ii) agitar la mezcla bifásica para obtener el compuesto de la fórmula (XIV) a una temperatura de 15 a 25 °C;

(iii) separar las capas de disolvente; y

20

(iv) extraer el compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, en un disolvente orgánico.

En algunas realizaciones, en la etapa (B)(iii) comprende las etapas:

25

(1) separar las capas de disolvente;

(2) ajustar la capa acuosa a un pH básico;

30

(3) lavar la capa acuosa con un disolvente orgánico; y

(4) ajustar la capa acuosa a un pH inferior a 8.

En algunas realizaciones, en la etapa (B)(iii)(4), la capa acuosa se ajusta a un pH inferior a 6.

35

En algunas realizaciones, en la etapa (B)(iv), el compuesto de fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se extrae en acetato de etilo, y el compuesto de fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se cristaliza por medio de la adición de éter terc-butílico.

40

La presente invención proporciona procedimientos sintéticos mejorados para la producción a gran escala de compuestos de ésteres y ácidos borónicos. Estos procedimientos ofrecen un mayor rendimiento y pureza, una mayor producción y una mayor facilidad de manejo en comparación con los procedimientos de la técnica anterior. En particular, los procedimientos descritos en la presente memoria son adecuados para la producción por lotes a gran escala, de varios kilogramos, que sólo está limitada por el tamaño de las capacidades de fabricación disponibles. Los procedimientos de la invención son particularmente ventajosos para la síntesis de compuestos de ésteres y ácidos borónicos quirales, incluyendo compuestos de ésteres y ácidos alfa-aminoborónicos. Independientemente de la escala, los productos deseados se producen con una pureza química y estereoquímica muy elevada.

45

50

La literatura científica y de patentes a la que se hace referencia en la presente memoria establece el conocimiento que está disponible para los expertos en la técnica. A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por una persona con conocimientos ordinarios en la técnica a la que se refiere esta invención. Aunque se pueden utilizar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente memoria en la práctica o las pruebas de la presente invención, los procedimientos y materiales preferidos se describen en la presente memoria. Las patentes emitidas, las aplicaciones y las referencias que se citan en la presente memoria se incorporan como referencia en la misma medida que si se indicara específica e individualmente que cada una de ellas se incorpora por referencia. En caso de incoherencias, prevalecerá la presente divulgación, incluidas las definiciones. Además, los materiales, procedimientos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitativos.

60

El término "sobre" se utiliza en la presente memoria para significar aproximadamente, en la región de, aproximadamente, o alrededor. Cuando el término "sobre" se utiliza junto con un intervalo numérico, modifica ese intervalo por medio de la ampliación de los límites por encima y por debajo de los valores numéricos establecidos. En general, el término "aproximadamente" se utiliza en la presente memoria para modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor declarado con una variación del 10%.

65

El término "comprende" se utiliza en la presente memoria para significar "incluye, pero no se limita a"

5 El término "alifático", como se utiliza en la presente memoria, significa un hidrocarburo C₁₋₁₂ de cadena recta, ramificado o cíclico que está completamente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático. Por ejemplo, los grupos alifáticos adecuados incluyen grupos alquilos, alquenos y alquinos lineales, ramificados o cíclicos, sustituidos o no sustituidos, e híbridos de los mismos, tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalquenil)alquilo o (cicloalquil)alqueno. En varias realizaciones, el grupo alifático tiene de 1 a 12, de 1 a 8, de 1 a 6, o de 1 a 4 carbonos.

10 Los términos "alquilo", "alqueno" y "alquino", utilizados solos o como parte de una fracción mayor, se refieren a un grupo alifático de cadena recta o ramificada que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, que está opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes. A efectos de la presente invención, el término "alquilo" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula sea un átomo de carbono saturado. Sin embargo, un grupo alquilo puede incluir insaturación en otros átomos de carbono.
15 De este modo, los grupos alquilo incluyen, sin limitación, metilo, etilo, propilo, alilo, propargilo, butilo, pentilo y hexilo.

A efectos de la presente invención, el término "alqueno" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula forme parte de un doble enlace carbono-carbono. Los grupos alqueno incluyen, sin limitación, vinilo, 1-propeno, 1-buteno, 1-penteno y 1-hexeno. A efectos de la presente invención, el término "alquino" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula forme parte de un triple enlace carbono-carbono. Los grupos alquilo incluyen, sin limitación, etilo, 1-propino, 1-butilo, 1-pentilo y 1-hexilo.

25 Los términos "cicloalquilo", "carbociclo", "carbociclilo", "carbociclo" o "carbocíclico", utilizados solos o como parte de una fracción mayor, significan un sistema de anillos alifáticos cíclicos saturados o parcialmente insaturados que tienen de 3 a unos 14 miembros, en donde el sistema de anillos alifáticos está opcionalmente sustituido. Los grupos cicloalquilo incluyen, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexeno, cicloheptilo, ciclohepteno, ciclooctilo, cicloocteno y ciclooctadieno. En algunas
30 realizaciones, el cicloalquilo tiene de 3 a 6 carbonos. Los términos "cicloalquilo", "carbociclo", "carbociclilo", "carbociclo" o "carbocíclico" también incluyen los anillos alifáticos que se fusionan con uno o más anillos aromáticos o no aromáticos, tales como el decahidronaftilo o el tetrahidronaftilo, donde el radical o punto de unión está en el anillo alifático.

35 Los términos "haloalquilo", "haloalqueno" y "haloalcoxi" se refieren a un grupo alquilo, alqueno o alcoxi, según el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. Como se utiliza en la presente memoria, el término "halógeno" o "halo" significa F, Cl, Br o I. A menos que se indique lo contrario, los términos "alquilo", "alqueno" y "alcoxi" incluyen los grupos haloalquilo, haloalqueno y haloalcoxi, incluyendo, en particular, aquellos con 1 a 5 átomos de flúor.

40 Los términos "arilo" y "ar-", utilizados solos o como parte de una fracción mayor, por ejemplo, "aralquilo", "aralcoxi" o "ariloxilo", se refieren a una fracción aromática C₆₋₁₄ que comprende de uno a tres anillos aromáticos, opcionalmente sustituidos. Preferentemente, el grupo arilo es un grupo arilo C₆₋₁₀. Los grupos arilo incluyen, sin limitación, fenilo, naftilo y antraceno. El término "arilo", como se utiliza en la presente memoria, también incluye grupos en los que un anillo aromático está fusionado con uno o más anillos no aromáticos, tales como indanilo, fenantridinilo o tetrahidronaftilo, donde el radical o punto de unión está en el anillo aromático. El término "arilo" se puede utilizar indistintamente con el término "anillo de arilo".

50 Un grupo "aralquilo" o "arilalquilo" comprende un grupo arilo unido covalentemente a un grupo alquilo, cualquiera de los cuales, independientemente, está opcionalmente sustituido. Preferentemente, el grupo aralquilo es un aril(C₁₋₆) alquilo de C₆₋₁₀, incluyendo, sin limitación, bencilo, fenetilo y naftilmetilo.

55 Los términos "heteroarilo" y "heteroar-", utilizados solos o como parte de una fracción mayor, por ejemplo, heteroaralquilo, o "heteroaralcoxi", se refieren a grupos que tienen de 5 a 14 átomos de anillo, preferentemente 5, 6, 9 o 10 átomos de anillo; que tienen 6, 10 o 14 π electrones compartidos en un conjunto cíclico; y que tienen, además de átomos de carbono, de uno a cuatro heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en N, O y S. Los grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranoilo, dibenzofuranoilo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purinilo, quinolilo, isoquinolilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, pteridinilo, carbazolilo, acridinilo y fenazinilo. Los términos "heteroarilo" y "heteroar-", como se utilizan en la presente memoria, también incluyen grupos en los que un anillo heteroaromático está fusionado con uno o más anillos no aromáticos, donde el radical o punto de unión está en el anillo heteroaromático. Los ejemplos no limitantes incluyen tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo y pirido[3,4-d]pirimidinilo. El término
60 "heteroarilo" se puede utilizar indistintamente con el término "anillo heteroarilo" o el término "heteroaromático", cualquiera de los cuales incluye anillos opcionalmente sustituidos. El término "heteroaralquilo" se refiere a un

grupo alquilo sustituido por un heteroarilo, en donde las porciones de alquilo y heteroarilo, independientemente, están opcionalmente sustituidas.

5 Como se utilizan en la presente memoria, los términos "heterociclo", "heterociclilo" o "radical heterocíclico" se refieren a una fracción heterocíclica monocíclica estable de 5 a 7 miembros o bicíclica de 7 a 10 miembros que está saturada o parcialmente insaturada y que tiene, además de átomos de carbono, uno o más, preferentemente de uno a cuatro, heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en N, O y S, en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre están opcionalmente oxidados y los átomos de nitrógeno están opcionalmente cuaternizados. El anillo heterocíclico puede estar unido a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé lugar a una estructura estable, y cualquiera de los átomos del anillo puede estar opcionalmente sustituido. Los ejemplos de tales radicales heterocíclicos saturados o parcialmente insaturados incluyen, sin limitación, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, pirrolidinilo, pirrolidonilo, piperidinilo, piperolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, oxazolidinilo, piperazinilo, dioxanilo, dioxolanilo, diazepinilo, oxazepinilo, tiazepinilo y morfolinilo. Los términos "heterociclo", "heterociclilo" y "radical heterocíclico", como se utilizan en la presente memoria, también incluyen grupos en los que un anillo que contiene heteroátomos no aromáticos se fusiona con uno o más anillos aromáticos o no aromáticos, tales como indolinilo, cromanilo, fenantridinilo o tetrahidroquinolinilo, donde el radical o el punto de unión se encuentra en el anillo que contiene heteroátomos no aromáticos. El término "heterociclalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heterociclilo, en donde las porciones alquilo y heterociclilo están opcionalmente sustituidas.

20 Como se utiliza en la presente memoria, el término "parcialmente insaturado" se refiere a una fracción de anillo que incluye al menos un enlace doble o triple entre los átomos del anillo. El término "parcialmente insaturado" pretende abarcar los anillos que tienen uno o varios sitios de insaturación, pero no pretende incluir las moléculas de arilo o heteroarilo, como se definen en la presente memoria.

25 El término "sustituido", como se utiliza en la presente memoria, significa que uno o más átomos de hidrógeno de la fracción designada se sustituyen, a condición de que la sustitución dé lugar a un compuesto estable o químicamente viable. Un compuesto estable o químicamente viable es aquel en el que la estructura química no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40 °C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana, o un compuesto que mantiene su integridad el tiempo suficiente para ser útil para los procedimientos sintéticos de la invención. La frase "uno o más sustituyentes", como se utiliza en la presente memoria, se refiere a un número de sustituyentes que es igual a uno hasta el número máximo de sustituyentes posible basado en el número de sitios de enlace disponibles, a condición de que se cumplan las condiciones de estabilidad y viabilidad química mencionadas anteriormente.

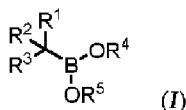
30 Un grupo arilo (incluida la fracción arilo en aralquilo, aralcoxi, ariloxilo y similares) o heteroarilo (incluida la fracción heteroarilo en heteroaralquilo y heteroarilcoxi y similares) puede contener uno o más sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo incluyen -halo, -NO₂, -CN, -R*, -OR*, -SR°, -N(R⁺)₂ -NR⁺C(O)R*, -NR⁺C(O)N(R⁺)₂, -NR⁺CO₂R°, -O-CO₂R*, -O-C(O)R*, -CO₂R*, -C(O)R*, -C(O)N(R⁺)₂, -OC(O)N(R⁺)₂, -S(O)₂R°, -SO₂N(R⁺)₂, -S(O)R°, y -NR⁺SO₂N(R⁺)₂. Cada R⁺ independientemente se selecciona del grupo que consiste en R*, -C(O)R*, -CO₂R*, y -SO₂R*, o dos R⁺ en el mismo átomo de nitrógeno, tomados junto con el átomo de nitrógeno, forman un anillo aromático o no aromático de 5 a 8 miembros que tiene, además del nitrógeno, de 0 a 2 heteroátomos de anillo seleccionados entre N, O y S. Cada R* independientemente es hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo o heterociclilo opcionalmente sustituido. Cada R° es, independientemente, un grupo alifático o arílico opcionalmente sustituido.

40 Un grupo alifático también puede estar sustituido con uno o más sustituyentes. Los ejemplos de sustituyentes adecuados en el carbono saturado de un grupo alifático o de un anillo heterocíclico no aromático incluyen, sin limitación, los enumerados anteriormente para el carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo.

45 Los presentes inventores han descubierto que el requisito de un equipo, disolventes y reactivos escrupulosamente secos que caracterizaba los procedimientos descritos anteriormente para el reordenamiento promovido por el ácido Lewis de los complejos de boro "nato" se puede obviar mediante el uso de un disolvente de éter que tiene baja miscibilidad con el agua. Sorprendentemente, el uso de un disolvente de este tipo permite que la reacción se lleve a cabo a una escala de varios kilogramos sin que se deteriore el rendimiento o la pureza. En esencia, la escala de la reacción sólo está limitada por el tamaño de las capacidades de fabricación disponibles.

50 La información técnica que se expone a continuación puede, en algunos aspectos, ir más allá del alcance de la presente invención, que se define por las reivindicaciones adjuntas. La información técnica adicional se proporciona para situar la invención real en un contexto técnico más amplio y para ilustrar posibles desarrollos técnicos relacionados.

También en la presente memoria se divulga un procedimiento a gran escala para preparar un compuesto de éster borónico de la fórmula (I):



5

en donde:

R¹ es un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido;

10 R² es hidrógeno, un grupo nucleofúgico o un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido;

R³ es un grupo nucleofúgico o un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido; y

15 cada uno de R⁴ y R⁵, de forma independiente, es un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido, o R⁴ y R⁵, tomados junto con los átomos de oxígeno y boro intermedios, forman un anillo de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido que tiene de 0 a 2 heteroátomos de anillo adicionales seleccionados entre N, O o S.

20 El procedimiento comprende las etapas:

(a) proporcionar un complejo de boro "nato" de la fórmula (II):



25

donde

Y es un grupo nucleofúgico;

30 M⁺ es un catión; y

cada uno de R¹ a R⁵ es como se ha definido anteriormente; y

35 (b) poner en contacto el complejo de boro "nato" de la fórmula (II) con un ácido de Lewis en condiciones que permitan obtener el compuesto de éster borónico de la fórmula (I), dicha etapa de contacto se lleva a cabo en una mezcla de reacción que comprende:

(i) un disolvente de éter de coordinación de baja miscibilidad con el agua, o

40 (ii) un disolvente éter de baja miscibilidad con el agua y un cosolvente de coordinación.

Los procedimientos previamente reportados para el reordenamiento promovido por el ácido Lewis de los complejos de boro "nato" emplean tetrahidrofurano, un disolvente de éter que es totalmente miscible con el agua. Si no se emplean equipos, disolventes y reactivos rigurosamente secos en estos procedimientos, se produce una reducción drástica de la relación diastereomérica. Los ácidos de Lewis higroscópicos, en particular, se deben secar al fuego inmediatamente antes de su uso en la reacción. Aunque las técnicas para llevar a cabo reacciones sensibles a la humedad son conocidas por los expertos en la técnica y se practican rutinariamente a escala de laboratorio, dichas reacciones son costosas y difíciles de ampliar.

50 Además, el intento de ampliación del procedimiento de la técnica anterior con frecuencia da lugar a un mayor deterioro de la relación diastereomérica durante el trabajo y el aislamiento del compuesto de éster borónico del producto. Matteson y Erdiik, *Organometallics*, 2:1083 (1983), informan de que la exposición de los productos de ésteres alfa-haloborónicos al ion haluro libre da lugar a la epimerización en el centro de carbono alfa. Sin querer estar limitados por la teoría, los presentes inventores creen que la epimerización es particularmente problemática durante la elaboración de la reacción y/o las etapas posteriores. Por ejemplo, se cree que la epimerización se produce durante la concentración de la mezcla de reacción para eliminar el disolvente tetrahidrofurano y cambiarlo por un disolvente inmiscible en agua. El hecho de no eliminar completamente el tetrahidrofurano también afecta negativamente a la relación diastereomérica durante los siguientes lavados acuosos. La exposición del producto al ion haluro durante estas etapas es difícil de evitar, especialmente

60 cuando la reacción se lleva a cabo a gran escala.

Los presentes inventores han descubierto que el reordenamiento de los complejos de boro "nato" se lleva a cabo ventajosamente en un disolvente de éter que tiene baja miscibilidad con el agua. El uso de tales disolventes evita la necesidad de intercambiar disolventes antes de los lavados acuosos, y el producto orgánico-soluble está efectivamente protegido de los iones haluros acuosos durante los lavados, incluso si se lleva a cabo a gran escala. Preferentemente, la solubilidad del agua en el disolvente éter es inferior a aproximadamente el 5% en peso, más preferentemente inferior a aproximadamente el 2% en peso. En varias realizaciones, el disolvente de éter que tiene baja miscibilidad con el agua constituye al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, o al menos un 95% v/v de la mezcla de reacción.

El disolvente de éter preferentemente es uno que es adecuado para el uso rutinario en la producción a gran escala. Como se utiliza en la presente memoria, el término "a gran escala" se refiere a una reacción que utiliza al menos unos cinco moles de al menos un material de partida. Preferentemente, un procedimiento a gran escala utiliza al menos unos 10, 20, 50 o 100 moles de al menos un material de partida.

A efectos de la divulgación, el término "éter" se refiere a cualquiera de una clase de compuestos químicos caracterizados por tener un átomo de oxígeno unido a dos átomos de carbono. Un "disolvente de éter" es un compuesto de éter que existe en forma líquida a la temperatura de reacción deseada y es capaz de disolver el material o materiales de partida y/o el producto o productos de la reacción. Los ejemplos no limitantes de disolventes de éter adecuados para su uso en el procedimiento de la invención incluyen *tert*-butil metil éter, *tert*-butil etil éter, *tert*-amil metil éter e isopropil éter.

La mezcla de reacción además puede comprender un codisolvente de coordinación. El disolvente éter que tiene baja miscibilidad con el agua puede ser lo suficientemente coordinador como para que no sea necesario un cosolvente de coordinación. Para los fines de la divulgación, los términos "codisolvente de coordinación" y "disolvente de coordinación" se refieren a un disolvente capaz de coordinar el ácido de Lewis y disolver los componentes iónicos de la reacción. Los disolventes de éteres impedidos, tales como *tert*-butil metil éter, son poco coordinadores y preferentemente se utilizan con un co-disolvente coordinador. Los ejemplos no limitantes de co-solventes de coordinación adecuados para su uso en la práctica de la divulgación incluyen tetrahidrofurano, dioxano, el agua y sus mezclas.

La mezcla de reacción puede comprender al menos un 5% o al menos un 10% v/v de un codisolvente de coordinación. Preferentemente, la cantidad de un codisolvente de coordinación miscible en agua presente en la mezcla de reacción no es tan grande como para interferir con la separación de fases durante la reacción o el trabajo. El codisolvente de coordinación puede constituir no más de un 20%, un 15% o un 10% v/v de la mezcla de reacción.

Como se utiliza en la presente memoria, el término "nucleofílico" se refiere a cualquier grupo que es capaz de sufrir un desplazamiento nucleofílico bajo las condiciones de reordenación del presente procedimiento. Tales grupos nucleofílicos son conocidos en la técnica. Preferentemente, el grupo nucleofílico es un halógeno, más preferentemente cloro o bromo. En el curso de la reacción de reordenación que convierte el complejo de boro "nato" de la fórmula (II) en el compuesto de éster borónico de la fórmula (I), el grupo nucleofílico Y se libera como Y⁻. A modo de ejemplo, cuando Y es cloro, el ion cloruro se libera en la etapa (b).

La variable M⁺ es cualquier contraión catiónico para el átomo de boro tetravalente cargado negativamente en el complejo de boro "nato" de la fórmula (II). M⁺ se puede seleccionar del grupo formado por Li⁺, Na⁺ y K⁺. Los expertos en la técnica reconocerán que la sal M⁺Y⁻ se forma como subproducto en la reacción de reordenamiento de la etapa (b).

La variable R¹ preferentemente es un grupo con buena aptitud migratoria. En algunas realizaciones, R¹ es C₁₋₈ alifático, C₆₋₁₀ arilo, o (C₆₋₁₀ aril)(C₁₋₆ alifático), cualquiera de cuyos grupos está opcionalmente sustituido. En ciertas realizaciones, R¹ es C₁₋₄ alifático, particularmente isobutilo.

La variable R² preferentemente es hidrógeno, un grupo nucleofílico o un grupo C₁₋₈ alifático, C₆₋₁₀ arilo, o (C₆₋₁₀ aril)(C₁₋₆ alifático) opcionalmente sustituido. La variable R³ preferentemente es un grupo nucleofílico o un grupo C₁₋₈ alifático, C₆₋₁₀ arilo, o (C₆₋₁₀ aril)(C₁₋₆ alifático) opcionalmente sustituido. Los expertos en la técnica reconocerá que los sustituyentes funcionales pueden estar presentes en cualquiera de R¹, R² o R³, a condición de que el sustituyente funcional no interfiera con la formación del complejo de boro "nato" de la fórmula (II).

En la presente memoria se divulga un procedimiento para preparar un compuesto de éster borónico de la fórmula (I), en donde R³ es un grupo nucleofílico. Dichos compuestos son útiles como intermedios para la síntesis de compuestos de ésteres y ácidos borónicos alfa-sustituidos, incluyendo compuestos de ésteres y ácidos alfa-aminoborónicos, como se describe a continuación. R³ puede ser un grupo nucleofílico y R² es hidrógeno.

Las variables R^4 y R^5 pueden ser iguales o diferentes. R^4 y R^5 pueden estar directamente enlazados, de forma que R^4 y R^5 , junto con los átomos de oxígeno y boro intermedios, forman un anillo de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido, que puede tener 0 a 2 heteroátomos de anillo adicionales seleccionados entre N, O o S. El anillo puede ser un anillo de 5 o 6 miembros, preferentemente un anillo de 5 miembros.

5

La presente divulgación es particularmente ventajosa para el reordenamiento promovido por el ácido de Lewis de complejos de boro "nato" de la fórmula (II), en donde R^4 y R^5 están directamente vinculados y juntos son una fracción quiral. También se divulga en la presente memoria el reordenamiento de tales complejos de boro "nato" quirales para proporcionar un compuesto de éster borónico de la fórmula (I) en donde el átomo de carbono que lleva R^1 , R^2 y R^3 es un centro quiral. La reacción de reordenación preferentemente procede con un alto grado de estereodirección por la fracción quiral R^4 - R^5 para proporcionar el compuesto éster borónico de la fórmula (I) que tiene una relación diastereomérica en el átomo de carbono que lleva R^1 , R^2 y R^3 de al menos aproximadamente 96:4 en relación con un centro quiral en la fracción quiral R^4 - R^5 . Preferentemente, la proporción diastereomérica es de al menos aproximadamente 97:3.

10

15

Los términos "estereoisómero", "enantiómero", "diastereómero", "epímero" y "centro quiral" se utilizan en la presente memoria según el significado que cada uno de ellos recibe en el uso ordinario por parte de los expertos en la técnica. De este modo, los estereoisómeros son compuestos que tienen la misma conectividad atómica, pero difieren en la disposición espacial de los átomos. Los enantiómeros son estereoisómeros que tienen una relación de imagen especular, es decir, la configuración estereoquímica en todos los centros quirales correspondientes es opuesta. Los diastereómeros son estereoisómeros que tienen más de un centro quiral, que difieren entre sí en que la configuración estereoquímica de al menos uno, pero no todos, de los centros quirales correspondientes es opuesta. Los epímeros son diastereómeros que difieren en la configuración estereoquímica en un solo centro quiral.

20

25

Como se utiliza en la presente memoria, el término "relación diastereomérica" se refiere a la relación entre los diastereómeros que difieren en la configuración estereoquímica en un centro quiral, en relación con un segundo centro quiral en la misma molécula. A modo de ejemplo, una estructura química con dos centros quirales ofrece cuatro posibles estereoisómeros: R^*R , R^*S , S^*R y S^*S , en donde el asterisco indica el centro quiral correspondiente en cada estereoisómero. La relación diastereomérica para tal mezcla de estereoisómeros es la relación entre un diastereómero y su enantiómero y el otro diastereómero y su enantiómero $= (R^*R + S^*S) : (R^*S + S^*R)$.

30

35

Los expertos en la técnica reconocerán que son posibles estereoisómeros adicionales cuando la molécula tiene más de dos centros quirales. A efectos de la presente invención, el término "relación diastereomérica" tiene un significado idéntico en referencia a los compuestos con múltiples centros quirales que en referencia a los compuestos que tienen dos centros quirales. De este modo, el término "relación diastereomérica" se refiere a la relación entre todos los compuestos que tienen configuración R^*R o S^*S en los centros quirales especificados y todos los compuestos que tienen configuración R^*S o S^*R en los centros quirales especificados. Por comodidad, esta relación se denomina en la presente memoria como la relación diastereomérica en el carbono con asterisco, en relación con el segundo centro quiral especificado.

40

45

La relación diastereomérica se puede medir por medio de cualquier procedimiento analítico adecuado para distinguir entre compuestos diastereoméricos que tengan diferentes configuraciones estereoquímicas relativas en los centros quirales especificados. Dichos procedimientos incluyen, sin limitación, la resonancia magnética nuclear (RMN), la cromatografía de gases (CG) y los procedimientos de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

50

55

Como se ha comentado anteriormente, en la presente memoria se divulgan procedimientos que proporcionan un compuesto de éster borónico de la fórmula (I) que tiene una relación diastereomérica en el átomo de carbono que lleva R^1 , R^2 y R^3 de al menos aproximadamente 96:4 en relación con un centro quiral en la fracción quiral R^4 - R^5 . Los expertos en la técnica reconocerá que la fracción quiral R^4 - R^5 puede contener más de un centro quiral. Cuando R^4 - R^5 tiene más de un centro quiral, preferentemente tiene una alta pureza diastereomérica, y la relación diastereomérica en el átomo de carbono que lleva R^1 , R^2 y R^3 se puede medir en relación con cualquiera de los centros quirales en R^4 - R^5 .

60

La fracción quiral R^4 - R^5 preferentemente tiene un alto nivel de pureza enantiomérica. A efectos de la divulgación, el término "pureza enantiomérica" se utiliza para referirse al "exceso enantiomérico", que es la cantidad en la que el enantiómero mayor supera al menor, expresada como porcentaje del total. Preferentemente, la fracción quiral R^4 - R^5 tiene una pureza enantiomérica de al menos un 98%, más preferentemente de al menos un 99%, aún más preferentemente de al menos un 99,5%, y más preferentemente de al menos un 99,9%.

65

Cuando la fracción quiral R^4 - R^5 tiene una pureza enantiomérica muy elevada, la relación diastereomérica en el átomo de carbono que lleva R^1 , R^2 , R^3 se aproxima a la relación epimérica en ese centro, es decir, la relación diastereomérica $\cong (R^*R) : (S^*R)$ o $(R^*S) : (S^*S) \cong (R^*) : (S^*)$. Como se utiliza en la presente memoria, el término

“relación epimérica” se refiere a la relación entre el producto que tiene una configuración estereoquímica absoluta en un centro quiral determinado y el producto que tiene la configuración estereoquímica absoluta opuesta en el centro quiral correspondiente. Preferentemente, los productos tienen idéntica configuración estereoquímica en todos los demás centros quirales correspondientes. La divulgación se puede referir al reordenamiento de un complejo quiral de boro “nato” de la fórmula (II) para proporcionar un compuesto de éster borónico de la fórmula (I) en donde la relación epimérica en el átomo de carbono que lleva R¹, R² y R³ es al menos de aproximadamente 96:4, más preferentemente al menos de aproximadamente 97:3.

Los ácidos de Lewis adecuados para su uso en la práctica de la divulgación son aquellos capaces de formar complejos con el grupo nucleofílico para facilitar su desplazamiento al migrar R¹. Preferentemente, el ácido de Lewis es capaz de coordinarse adicionalmente con un átomo de oxígeno unido al boro. Los ejemplos no limitantes de ácidos de Lewis adecuados incluyen bromuro de zinc, cloruro de zinc, bromuro férrico y cloruro férrico. El ácido de Lewis puede ser el cloruro de zinc.

La etapa de contacto se lleva a cabo preferentemente a baja temperatura, pero se puede llevar a cabo a temperatura ambiente o elevada. La selección de una temperatura de reacción adecuada dependerá en gran medida del ácido de Lewis empleado, así como de la aptitud migratoria de la fracción R¹. Los expertos en la técnica podrá seleccionar una temperatura adecuada en función de las condiciones de reacción utilizadas.

La etapa de contacto se puede llevar a cabo a una temperatura de reacción de al menos unos -100 °C, -78 °C o -60 °C. La etapa de contacto se puede llevar a cabo a una temperatura de reacción que no sea superior a unos 80 °C, 40 °C o 30 °C. Cualquier intervalo que abarque estas temperaturas altas y bajas se incluye en el ámbito de la invención. Preferentemente, la etapa de contacto se lleva a cabo a una temperatura de reacción en el intervalo de aproximadamente -100 °C a aproximadamente 80 °C, de aproximadamente -70 °C a aproximadamente 40 °C, de aproximadamente -60 °C a aproximadamente 30 °C, o de aproximadamente -50 °C a aproximadamente 30 °C. La etapa de contacto se puede iniciar a baja temperatura, preferentemente en el intervalo de -70 °C a -30 °C, y luego se deja que la mezcla de reacción se caliente, preferentemente a temperatura ambiente.

Sorprendentemente, el procedimiento de la presente divulgación no requiere ninguna precaución especial para evitar la presencia de agua durante la propia reacción de reordenación. Se puede emplear el ácido Lewis húmedo, con un deterioro mínimo de la relación diastereomérica. Cuando se utiliza en referencia al ácido de Lewis, el término “húmedo” significa que el contenido de agua del ácido de Lewis es superior a unas 100, 200, 500 o 1.000 ppm. Sorprendentemente, el ácido de Lewis incluso se puede añadir a la mezcla de reacción en forma de solución acuosa sin un impacto perjudicial en la relación diastereomérica.

El procedimiento de la divulgación puede comprender las etapas:

(a) proporcionar una solución que comprenda un complejo de boro “nato” de la fórmula (II) y

(i) un disolvente de éter de coordinación de baja miscibilidad con el agua, o

(ii) un disolvente de éter de baja miscibilidad con el agua y un cosolvente de coordinación; y

(b) añadir a la solución de la etapa a) una solución de ácido de Lewis que comprenda agua y un ácido de Lewis.

La solución de ácido de Lewis puede comprender tetrahidrofurano y un ácido de Lewis.

Por lo tanto, a diferencia del procedimiento de la técnica anterior, el procedimiento de la divulgación es fácilmente susceptible de producción a gran escala. Al menos unos 5, 10, 20, 50, 100, 500 o 1000 moles de complejo de boro “nato” de la fórmula (II) se pueden poner en contacto con un ácido de Lewis en condiciones que permitan obtener el compuesto de éster borónico de la fórmula (I). La divulgación además proporciona una composición que comprende un compuesto de éster borónico de la fórmula (I), como se describe en la presente memoria, y un disolvente de éter que tiene baja miscibilidad con el agua. La composición preferentemente comprende al menos unos 5, 10, 20, 50, 100, 500 o 1000 moles del compuesto de éster borónico de la fórmula (I). R⁴ y R⁵ juntos pueden ser una fracción quiral, y el compuesto de la fórmula (I) presente en la composición tiene una relación diastereomérica de al menos aproximadamente 96:4 en el átomo de carbono que lleva R¹, R² y R³, en relación con un centro quiral en la fracción quiral R⁴-R⁵.

La elaboración de la reacción preferentemente comprende el lavado de la mezcla de reacción con una solución acuosa y la concentración de la mezcla de reacción lavada por medio de la eliminación de disolventes para obtener un residuo que comprende el compuesto de éster borónico de la fórmula (I). Preferentemente, el residuo comprende al menos unos 5, 10, 20, 50, 100, 500 o 1000 moles del compuesto de éster borónico de la fórmula (I). Cuando R⁴-R⁵ es una fracción quiral, el compuesto éster borónico de la fórmula (I) presente en el residuo preferentemente tiene una relación diastereomérica de al menos aproximadamente 96:4 en el átomo de carbono que lleva R¹, R² y R³, en relación con un centro quiral en la fracción quiral R⁴-R⁵. Más

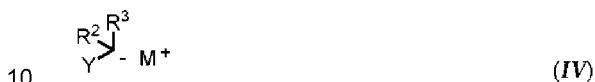
preferentemente, la relación diastereomérica es al menos de aproximadamente 97:3.

El complejo de boro "nato" de la fórmula (II) se puede preparar por cualquier procedimiento conocido, pero preferentemente se prepara por reacción de un éster borónico de la fórmula (III):

5



con un reactivo de la fórmula (IV):



10

en donde cada uno de M^+ , Y, y R^1 a R^5 son como se ha definido anteriormente para el complejo de boro "nato" de la fórmula (II). La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura de reacción de al menos unos -100 °C, -78 °C o -60 °C. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura de reacción no superior a unos 0 °C, -20 °C o -40 °C. Cualquier intervalo que abarque estas temperaturas altas y bajas se incluye dentro del alcance de la invención. La reacción se lleva a cabo preferentemente a una temperatura de reacción en el intervalo de aproximadamente -100 °C a aproximadamente 0 °C, de aproximadamente -78 °C a aproximadamente -20 °C, o de aproximadamente -60 °C a aproximadamente -40 °C. El complejo de boro "nato" de la fórmula (II) se puede preparar en una solución que comprenda un disolvente de éter de baja miscibilidad con el agua, y la mezcla de reacción se trata directamente con un ácido de Lewis para efectuar el reordenamiento al compuesto de éster de boro de la fórmula (I).

15

20

El reactivo de la fórmula (IV) se puede formarse *in situ*. Por ejemplo, el procedimiento puede incluir las etapas:

25

(i) proporcionar una solución que comprenda un éster borónico de la fórmula (III), como se ha definido anteriormente, y un compuesto de la fórmula (V):



30

en donde R^2 y R^3 son como se definen anteriormente para el reactivo de la fórmula (IV); y

(ii) tratar la solución con una base fuerte, estéricamente obstaculizada, para formar el complejo de boro "nato" de la fórmula (II).

35

La base estéricamente obstaculizada puede ser una base dialquilamida de metal alcalino de la fórmula $\text{M}^2\text{N}(\text{R}^\#)_2$, donde M^2 es Li, Na, o K, y cada $\text{R}^\#$, independientemente es un alifático ramificado o cíclico C_{3-6} . La formación *in situ* del reactivo de la fórmula (IV) es especialmente ventajosa en donde Y es un grupo nucleofúgico, debido a la inestabilidad del reactivo de la fórmula (IV).

40

El éster borónico de la fórmula (III) se puede preparar por cualquier procedimiento conocido, pero típicamente se prepara por esterificación del compuesto de ácido borónico correspondiente, por *ejemplo*, por los procedimientos descritos en Brown *et al.*, *Organometallics*, 2: 1311 a 1316 (1983). Los ésteres borónicos cíclicos de la fórmula (III) se preparan preferentemente por:

45

(a) proporcionar una solución que comprenda:

(i) un compuesto de ácido borónico de la fórmula $\text{R}^1\text{-B}(\text{OH})_2$;

50

(ii) un compuesto de la fórmula $\text{HO-R}^4\text{-R}^5\text{-OH}$, en donde R^4 y R^5 , tomados conjuntamente, son una cadena de enlace opcionalmente sustituida que comprende de 2 a 5 átomos de carbono y de 0 a 2 heteroátomos seleccionados del grupo formado por O, N y S; y

(iii) un disolvente orgánico que forme un azeótropo con el agua; y

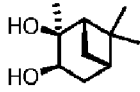
55

(b) calentar la solución a reflujo con eliminación azeotrópica del agua.

60

Como se utiliza en referencia a R^4 y R^5 , el término "cadena de enlace" se refiere a la cadena lineal más corta de átomos que conectan los átomos de oxígeno a los que están unidos R^4 y R^5 . La cadena de enlace está opcionalmente sustituida en cualquier átomo de la cadena, y uno o más átomos de la cadena también pueden formar parte de un sistema de anillos que es espiro, fusionado o puente de la cadena de enlace lineal. A modo

de ejemplo, pero sin limitación, en algunas realizaciones, el compuesto de la fórmula HO-R⁴-R⁵-OH es pinandiol, que tiene la estructura:



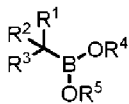
5

La cadena de enlace R⁴-R⁵ puede comprender dos átomos de carbono, que juntos forman un lado del sistema de anillos de biciclo[3.1.1]heptano, y uno de los cuales está adicionalmente sustituido con un grupo metilo.

10 El compuesto de la fórmula HO-R⁴-R⁵-OH puede ser un diol quiral, preferentemente uno que tenga alta pureza diastereomérica y enantiomérica. Uno de la habilidad en la técnica apreciará que en tal realización, el compuesto de la fórmula HO-R⁴-R⁵-OH está empleado como quiral auxiliar para dirigir la configuración estereoquímica en el carbono que lleva R¹, R², y R³. Los dioles quirales útiles como auxiliares quirales en la síntesis orgánica son muy conocidos en la técnica. Los ejemplos no limitantes incluyen 2,3-butanediol, preferentemente (2R,3R)-(-)-2,3-butanediol o (2S,3S)-(+)-2,3-butanediol; pinandiol, preferentemente (1R,2R,3R,5S)-(-)-pinandiol o (1S,2S,3S,5R)-(+)-pinandiol; 1,2-ciclopentanediol, preferentemente (1S,2S)-(+)-trans-1,2-ciclopentanediol o (1R,2R)-(-)-trans-1,2-ciclopentanediol; 2,5-hexanediol, preferentemente (2S,5S)-2,5-hexanediol o (2R,5R)-2,5-hexanediol; 1,2-diclohexil-1,2-etanodiol, preferentemente (1R,2R)-1,2-diclohexil-1,2-elhanediol o (1S,2S)-1,2-diclohexil-1,2-etanodiol; hidrobenczoína, preferentemente (S,S)-(-)-hidrobenczoína o (R,R)-(+)-hidrobenczoína; 2,4-pentanediol, preferentemente (R,R)-(-)-2,4-pentanediol o (S,S)-(+)-2,4-pentanediol; γ-lactona eritrónica, preferentemente D-eritrónica γ-lactona. Los hidratos de carbono, por ejemplo, un manitol 1,2,5,6 protegido simétricamente, también se pueden utilizar como dioles quirales.

25 Los ejemplos no limitantes de disolventes orgánicos adecuados para su uso en la reacción de esterificación incluyen acetonitrilo, tolueno, hexano, heptano y mezclas de los mismos. El disolvente orgánico puede ser un disolvente de éter, preferentemente un disolvente de éter que tenga baja miscibilidad con el agua. La reacción de esterificación se puede llevar a cabo en un disolvente de éter que tenga baja miscibilidad con el agua, y la solución del producto que comprende el éster borónico de la fórmula (III) se utiliza directamente en la siguiente etapa, sin aislar el éster borónico.

30 Como se ha señalado anteriormente, el procedimiento de la presente divulgación permite por primera vez la elaboración de reacciones a gran escala sin un deterioro significativo de la relación diastereomérica. También en la presente memoria se divulga una composición que comprende al menos unos 5, 10, 20, 50, 100, 500 o 1000 moles de un compuesto de éster borónico de la fórmula (I):



35

(I)

en donde:

40 R¹ es un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido;

R² es hidrógeno, un grupo nucleofúgico o un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido;

45 R³ es un grupo nucleofúgico o un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido; y

R⁴ y R⁵, junto con los átomos de oxígeno y boro intermedios, forman un anillo quiral de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido que tiene de 0 a 2 heteroátomos adicionales en el anillo seleccionados entre N, O o S;

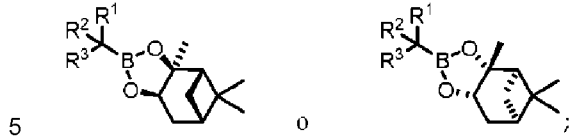
50 en donde el átomo de carbono al que están unidos R¹, R² y R³ es un centro quiral que tiene una relación diastereomérica de al menos aproximadamente 96:4, preferentemente de al menos aproximadamente 97:3, en relación con un centro quiral en la fracción quiral R⁴-R⁵.

55 Los valores preferidos para R¹ a R³ son los descritos anteriormente. Preferentemente, los disolventes constituyen menos de aproximadamente el 30% en peso, el 20% en peso, el 10% en peso o el 5% en peso de la composición según este aspecto de la invención. El compuesto de éster borónico de la fórmula (I) puede constituir al menos un 70% en peso, un 80% en peso, un 90% en peso o un 95% en peso de la composición.

60 En la composición descrita anteriormente, puede estar presente al menos una de las siguientes características:

(a) R³ es cloro;

(b) el compuesto de éster borónico (I) es



(c) R² es hidrógeno; y

(d) R¹ es C₁₋₄ alifático.

10

Todo el compuesto de éster borónico de la fórmula (I) presente en la composición se puede producir en un solo lote. A efectos de la divulgación, el término "ejecución por lotes" se refiere a la ejecución de un procedimiento sintético, en donde cada etapa del procedimiento se lleva a cabo una sola vez. Preferentemente, el compuesto de éster borónico de la fórmula (I) presente en la composición se prepara en una sola ejecución de lote del procedimiento según el primer aspecto de la invención. Una persona con conocimientos ordinarios de la técnica apreciará que la preparación de una determinada cantidad de producto por medio de una única ejecución de lotes de un procedimiento a gran escala es más eficiente y proporciona un producto más homogéneo que la preparación de la misma cantidad de producto por medio de la ejecución repetida de un procedimiento a pequeña escala.

20

Los compuestos de éster borónico de la fórmula (I) en donde R³ es un grupo nucleofúgico son útiles como intermedios para la síntesis de compuestos de éster alfa-aminoborónico.

25

También en la presente memoria se divulga un procedimiento a gran escala para preparar un éster alfa-aminoborónico, preferentemente por medio de un procedimiento que comprende las etapas:

(a) proporcionar un complejo de boro "nato" de la fórmula (II):

30



donde

Y es un grupo nucleofúgico;

35

M⁺ es un catión;

R¹ es un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido;

R² es hidrógeno;

40

R³ es un grupo nucleofúgico; y

cada uno de R⁴ y R⁵, de forma independiente, es un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido, o R⁴ y R⁵, tomados junto con los átomos de oxígeno y boro intermedios, forman un anillo de 5 a 10 miembros opcionalmente sustituido que tiene de 0 a 2 heteroátomos de anillo adicionales seleccionados entre N, O o S;

45

(b) poner en contacto el complejo de boro "nato" de la fórmula (II) con un ácido de Lewis en condiciones que permitan obtener el compuesto de éster borónico de la fórmula (I):

50



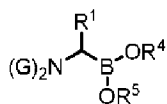
donde cada uno de R¹ a R⁵ es como se ha definido anteriormente, dicha etapa de contacto se lleva a cabo en una mezcla de reacción que comprende:

55

(i) un disolvente de éter de coordinación de baja miscibilidad con el agua, o

(ii) un disolvente de éter de baja miscibilidad con el agua y un cosolvente de coordinación; y

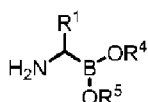
- 5 (c) tratar el compuesto de éster borónico de la fórmula (I) con un reactivo de la fórmula $M^1-N(G)_2$, donde M^1 es un metal alcalino y cada G, individualmente o en conjunto, es un grupo protector de un grupo amino, para formar un subproducto de la fórmula M^1-R^3 y un compuesto de la fórmula (VIII):



(VIII)

- 10 en donde cada G y R^1 a R^5 son como se definen anteriormente; y

(d) eliminar los grupos G para formar un compuesto de la fórmula (VII):



(VII)

- 15 o una sal de adición de ácido del mismo.

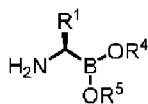
- 20 En la etapa (c), el compuesto de éster borónico de la fórmula (I) se puede tratar con un reactivo de la fórmula $M^1-N(Si(R^6)_3)_2$ donde M^1 es un metal alcalino y cada R^6 se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo, aralquilo y arilo, donde la porción de arilo o aralquilo está opcionalmente sustituida.

- 25 La reacción del compuesto de éster borónico de la fórmula (I) con el reactivo de la fórmula $M^1-N(G)_2$ preferentemente se lleva a cabo a una temperatura de reacción en el intervalo de aproximadamente $-100\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $50\text{ }^\circ\text{C}$, preferentemente de aproximadamente $-50\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $25\text{ }^\circ\text{C}$, y más preferentemente de aproximadamente $-30\text{ }^\circ\text{C}$ a aproximadamente $0\text{ }^\circ\text{C}$. R^3 puede ser halo, preferentemente cloro, y M^1 es Li. Para facilitar el aislamiento del producto de la fórmula (VIII), la mezcla de reacción comprende preferentemente un disolvente orgánico en el que el subproducto M^1-R^3 tiene baja solubilidad. Los ejemplos no limitantes de disolventes orgánicos adecuados incluyen metilciclohexano, ciclohexano, heptano, hexano y tolueno. La etapa (c) además puede comprender la filtración de la mezcla de reacción para eliminar M^1-R^3 y proporcionar un filtrado que comprenda el compuesto de la fórmula (VIII). Preferentemente, el filtrado se utiliza directamente en la etapa (d).

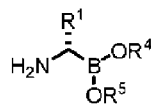
- 35 Cuando la mezcla de reacción comprende un disolvente orgánico en el que el subproducto M^1-R^3 tiene baja solubilidad, la mezcla de reacción además puede comprender un disolvente en el que el subproducto M^1-R^3 tiene alta solubilidad. En tales casos, el disolvente en el que el subproducto M^1-R^3 tiene una alta solubilidad preferentemente se elimina antes de la filtración de la mezcla de reacción. A modo de ejemplo, un reactivo de la fórmula $M^1-N(Si(R^6)_3)_2$ se puede añadir a la mezcla de reacción como una solución que comprende tetrahidrofurano. La etapa (c) preferentemente puede comprender la eliminación del tetrahidrofurano antes de filtrar la mezcla de reacción.

- 40 Los expertos en la técnica conocen varios procedimientos que se pueden utilizar para eliminar los grupos protectores G en el compuesto de la fórmula (VIII), incluyendo, por ejemplo, la hidrólisis acuosa o el tratamiento con ácido. El producto éster alfa-aminoborónico de la fórmula (VII) tiene poca estabilidad y preferentemente se derivatiza inmediatamente (Matteson *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 103:5241 (1981)) o se aísla como una sal de adición de ácido. La etapa (d) puede comprender el tratamiento del compuesto de la fórmula (VIII) con un ácido y el aislamiento del compuesto de la fórmula (VII) como la sal de adición de ácido. El ácido puede ser ácido trifluoroacético, y el compuesto de la fórmula (VII) se puede aislar como sal de adición de ácido trifluoroacético.

- 50 Como se ha discutido anteriormente, los procedimientos de la divulgación son particularmente adecuados para preparar compuestos de éster alfa-aminoborónico de la fórmula (VII), en donde el carbono alfa es un centro quiral. De este modo, también en la presente memoria se divulga un procedimiento a gran escala para preparar un compuesto de éster alfa-aminoborónico de la fórmula (VIIa) o (VIIb):



(VIIa)



(VIIb)

- 55 o una sal de adición de ácido de la misma, en donde:

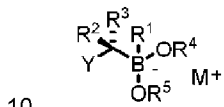
R¹ es un grupo alifático, aromático o heteroaromático opcionalmente sustituido; y

R⁴ y R⁵, junto con los átomos de oxígeno y boro que intervienen, forman un éster borónico cíclico opcionalmente sustituido;

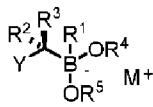
5

dicho procedimiento comprende:

(a) proporcionar un complejo de boro "nato" de la fórmula (IIa) o (IIb):



(IIa)



(IIb)

donde

Y es un grupo nucleofúgico;

15

M⁺ es un catión;

R² es hidrógeno;

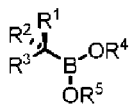
20

R³ es un grupo nucleofúgico; y

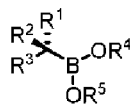
R⁴ y R⁵ son los definidos anteriormente;

(b) poner en contacto el complejo de boro "nato" de la fórmula (IIa) o (IIb) con un ácido de Lewis en condiciones que permitan obtener un compuesto de éster borónico de la fórmula (Ia) o (Ib):

25



(Ia)



(Ib)

donde cada uno de R¹ a R⁵ es como se ha definido anteriormente, dicha etapa de contacto se lleva a cabo en una mezcla de reacción que comprende:

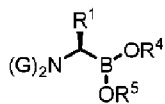
30

(i) un disolvente de éter de coordinación de baja miscibilidad con el agua, o

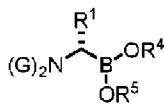
(ii) un disolvente de éter de baja miscibilidad con el agua y un cosolvente de coordinación; y

35

(c) tratar el compuesto de éster borónico de la fórmula (Ia) o (Ib) con un reactivo de la fórmula M¹-N(G)₂, donde M¹ es un metal alcalino y G es una fracción protectora de grupo amino, para formar un compuesto de la fórmula (VIIIa) o (VIIIb):



(VIIIa)

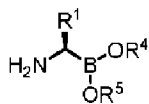


(VIIIb)

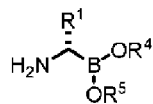
en donde cada G y R¹ a R⁵ son como se definen anteriormente; y

(d) eliminar los grupos G para formar un compuesto de la fórmula (VIIa) o (VIIb):

45



(VIIa)



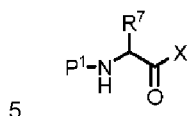
(VIIb)

o una sal de adición de ácido del mismo.

50

Los valores preferidos para Y, M⁺, R¹ a R⁵ y G son los descritos anteriormente. El compuesto de la fórmula (VIIa) o (VIIb) preferentemente tiene una relación diastereomérica en el carbono alfa de al menos aproximadamente 96:4, más preferentemente de al menos aproximadamente 97:3, en relación con un centro quiral en la fracción quiral R⁴-R⁵.

Los compuestos de éster alfa-aminoborónico de la fórmula (VII) son intermedios sintéticos útiles para la preparación de compuestos de éster peptidil borónico. Este procedimiento puede, por lo tanto, comprender además el acoplamiento del compuesto de la fórmula (VII) con un compuesto de la fórmula (IX):



(IX)

en donde:

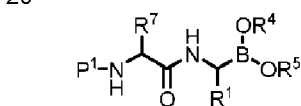
P¹ es una fracción de bloqueo del grupo amino;

R⁷ se selecciona del grupo formado por hidrógeno, C₁₋₁₀ alifáticos, C₆₋₁₀ arilos opcionalmente sustituidos o C₁₋₆ alifáticos-R⁸; y

R⁸ se selecciona del grupo que consiste en grupos alcoxi, alquiltio, arilo, heteroarilo y heterociclilo opcionalmente sustituidos, y grupos amino, hidroxilo y guanidino opcionalmente protegidos; y

X es OH o un grupo saliente;

para formar un compuesto de la fórmula (X):



(X)

en donde cada uno de P¹, R¹, R⁴, R⁵ y R⁷ es como se ha definido anteriormente.

25 El grupo saliente X es cualquier grupo capaz de desplazamiento nucleofílico por el grupo alfa-amino del compuesto de la fórmula (VII). La fracción -C(O)-X puede ser un éster activado, tal como un éster O-(N-hidroxisuccinimida). Un éster activado se puede generar *in situ* poniendo en contacto un compuesto de la fórmula (IX), en donde X es OH, con un reactivo de acoplamiento peptídico. Los ejemplos de reactivos de acoplamiento peptídico adecuados incluyen, sin limitación, reactivos de carbodiimida, por ejemplo, dicitohexilcarbodiimida (DCC) o 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC); reactivos de fosfonio, por ejemplo, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (reactivo BOP); y reactivos de uronio, por ejemplo, tetrafluoroborato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU).

35 Los expertos en la técnica también conocen procedimientos que permiten el acoplamiento directo de aminas protegidas con sililo, sin una etapa de desprotección previa. En estos procedimientos, los grupos silílicos se eliminan *in situ* en las condiciones de la reacción de acoplamiento. Por lo tanto, un compuesto de la fórmula (VIII) se puede poner en contacto con un compuesto de la fórmula (IX) en condiciones que eliminen los grupos (R⁶)₃ Si *in situ* y formen un compuesto de la fórmula (X).

40 Para los fines de la divulgación, el término "fracción de bloqueo de grupo amino" se refiere a cualquier grupo utilizado para derivar un grupo amino, especialmente un grupo amino N-terminal de un péptido o aminoácido. El término "fracción de bloqueo de grupo amino" incluye, pero no se limita a, grupos protectores que se emplean comúnmente en la síntesis orgánica, especialmente en la síntesis de péptidos. Véase, por ejemplo, Gross y Mienhoffer, eds., *The Peptides*, Vol. 3, Academic Press, Nueva York, 1981, págs. 3 a 88, Green y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ra edición, John Wiley e Hijos, Inc, Nueva York, 1999. Sin embargo, a menos que se especifique lo contrario, no es necesario que una fracción de bloqueo del grupo amino sea fácilmente escindible. Las moléculas de bloqueo del grupo amino incluyen, por ejemplo, moléculas de alquilo, de acilo, de alcocarbonilo, de aminocarbonilo y de sulfonilo. La fracción de bloqueo del grupo amino puede ser una fracción de acilo derivada de un aminoácido o un péptido, o un derivado o análogo del mismo.

50 Como se utiliza en la presente memoria, el término "aminoácido" incluye tanto los aminoácidos naturales como los no naturales. A efectos de la divulgación, un "derivado" de un aminoácido o péptido es aquel en el que un grupo funcional, por ejemplo, un grupo hidroxilo, amino, carboxilo o guanidino en el N-terminal o en una cadena lateral, se modifica con un grupo bloqueador. Como se utiliza en la presente memoria, un "análogo" de un aminoácido o péptido es aquel que incluye una columna vertebral o cadena lateral modificada. El término "análogo peptídico" se refiere a los péptidos en donde uno o más estereocentros están invertidos y uno o más enlaces peptídicos están sustituidos por un isóster peptídico.

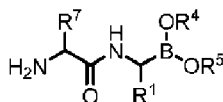
60 P¹ puede ser un grupo protector escindible. Los ejemplos de grupos protectores escindibles incluyen, sin limitación, grupos protectores de acilo, por ejemplo, formilo, acetilo (Ac), succinilo (Suc) o metoxisuccinilo

(MeOSuc), y grupos protectores de uretano, por ejemplo, terc-butoxicarbonilo (Boc), benzoxicarbonilo (Cbz) o fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc).

Este procedimiento además puede comprender las etapas:

5

(f) eliminar el grupo protector P¹ para formar un compuesto de la fórmula (XI):

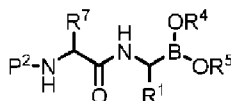


(XI)

10 o una sal de adición ácida de la misma, en donde cada uno de R¹, R⁴, R⁵ y R⁷ es como se ha definido anteriormente; y

(g) acoplar el compuesto de la fórmula (XI) con un reactivo de la fórmula P²-X, en donde P² es cualquier fracción de bloqueo de un grupo amino, como se ha descrito anteriormente, y X es un grupo saliente, para formar un compuesto de la fórmula (XII)

15



(XII)

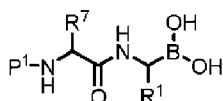
20 en donde cada uno de P², R¹, R⁴, R⁵ y R⁷ son como se definen anteriormente. Los expertos en la técnica reconocerán que en aquellas realizaciones en las que P² es un grupo acilo, incluyendo, por ejemplo, una fracción de acilo derivada de un aminoácido o péptido, o un análogo o derivado del mismo, el grupo saliente X se puede generar *in situ*, como se ha comentado anteriormente para el compuesto de la fórmula (IX).

25 En cada uno de los compuestos (X) y (XII), la fracción de ácido borónico está protegida como un éster borónico. Si se desea, la fracción de ácido borónico se puede desproteger por cualquier procedimiento conocido en la técnica. Preferentemente, la fracción de ácido borónico se desprotege por medio de transesterificación en una mezcla bifásica. Más preferentemente, la etapa de desprotección del ácido borónico comprende las etapas:

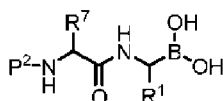
30 (i) proporcionar una mezcla bifásica que comprende el compuesto de éster borónico de la fórmula (X) o (XII), un aceptor de ácido borónico orgánico, un alcano inferior, un disolvente de hidrocarburo C₅₋₈ y un ácido mineral acuoso;

(ii) agitar la mezcla bifásica para obtener el correspondiente compuesto de ácido borónico desprotegido de la fórmula (Xa) o (XIII)

35



(Xa)



(XIII);

(iii) separar las capas de disolvente; y

40 (iv) extraer el compuesto de la fórmula (Xa), (XIII), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, en un disolvente orgánico.

45 El aceptor de ácido borónico orgánico en la etapa (i) preferentemente es un ácido alifático, arilo, o ar(alifático)borónico. El aceptor del ácido borónico se puede seleccionar del grupo que consiste en ácido fenilborónico, ácido bencilborónico, ácido butilborónico, ácido pentilborónico, ácido hexilborónico y ácido ciclohexilborónico. El aceptor del ácido borónico puede ser ácido isobutilborónico. El aceptor del ácido borónico se puede seleccionar de forma que el compuesto éster borónico de la fórmula (III) se forme como subproducto de la reacción de desprotección. El compuesto de éster borónico de la fórmula (III) se puede utilizar entonces en otra ejecución por lotes del procedimiento descrito anteriormente. La fracción R⁴-R⁵ se puede reciclar eficazmente, lo que puede ser especialmente ventajoso si R⁴-R⁵ es una fracción quiral cara.

50

Para mejorar la pureza del producto, la capa acuosa que contiene el compuesto de la fórmula (Xa) o (XIII) se lava preferentemente para eliminar las impurezas orgánicas neutras antes de la etapa de extracción (iv). La etapa (iii) preferentemente puede comprender las etapas:

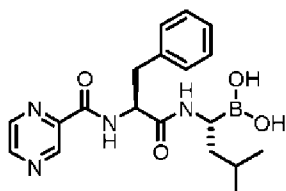
55

(1) separar las capas de disolvente;

- (2) ajustar la capa acuosa a un pH básico;
- (3) lavar la capa acuosa con un disolvente orgánico; y
- 5 (4) ajustar la capa acuosa a un pH inferior a aproximadamente 6.

También en la presente memoria se divulga un procedimiento mejorado para fabricar el inhibidor del proteasoma bortezomib. De este modo, la divulgación proporciona un procedimiento a gran escala para formar un compuesto de la fórmula (XIV):

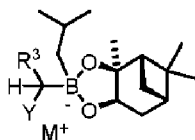
10



(XIV)

o un anhídrido del ácido borónico. El procedimiento comprende las etapas:

- 15 (a) proporcionar un complejo de boro "nato" de la fórmula (XV):



(XV)

en donde:

20

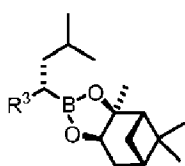
R³ es un grupo nucleofúgico;

Y es un grupo nucleofúgico; y

25

M⁺ es un metal alcalino;

(b) poner en contacto el complejo de boro "nato" de la fórmula (XV) con un ácido de Lewis en condiciones que permitan obtener un compuesto de éster borónico de la fórmula (XVI):



30

(XVI)

dicha etapa de contacto que se lleva a cabo en una mezcla de reacción que comprende:

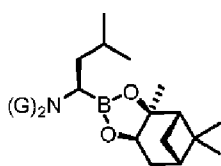
35

(i) un disolvente de éter de coordinación de baja miscibilidad con el agua, o

(ii) un disolvente éter de baja miscibilidad con el agua y un cosolvente de coordinación;

40

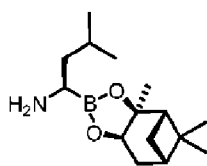
(c) tratar el compuesto de éster borónico de la fórmula (XVI) con un reactivo de la fórmula M¹-N(G)₂, donde M¹ es un metal alcalino y cada G individualmente o en conjunto es un grupo protector de grupos amino, para formar un compuesto de la fórmula (XVII)



(XVII)

45

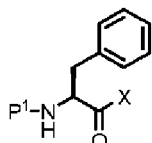
(d) eliminar los grupos G para formar un compuesto de la fórmula (XVIII):



(XVIII)

o una sal de adición de ácido del mismo;

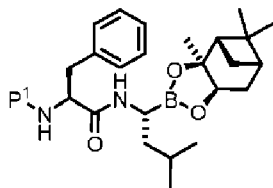
- 5 (e) acoplar el compuesto de la fórmula (XVIII) con un compuesto de la fórmula (XIX);



(XIX)

en donde:

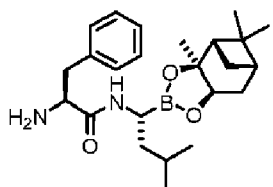
- 10 P¹ es una fracción protectora de un grupo amino escindible; y
 X es OH o un grupo saliente;
- 15 para formar un compuesto de la fórmula (XX):



(XX)

en donde P¹ es como se ha definido anteriormente;

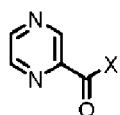
- 20 (f) eliminar el grupo protector P¹ para formar un compuesto de la fórmula (XXI):



(XXI)

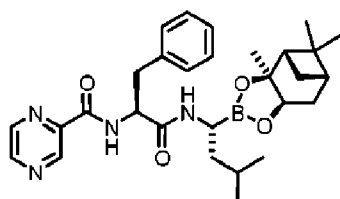
- 25 o una sal de adición de ácido del mismo;

(g) acoplar el compuesto de la fórmula (XXI) con un reactivo de la fórmula (XXII)



(XXII)

- 30 en donde X es un OH o un grupo saliente, para formar un compuesto de la fórmula (XXIII):



(XXIII);

y

(h) desproteger la fracción de ácido borónico para formar el compuesto de la fórmula (XIV) o un anhídrido de ácido borónico del mismo.

5

El procedimiento se puede caracterizar por al menos una de las siguientes características (1) a (5). El procedimiento se puede caracterizar por los cinco rasgos (1) a (5) siguientes.

10

(1) En el complejo de boro "nato" de la fórmula (XV), R³ e Y son ambos cloro.

(2) La etapa de acoplamiento (e) comprende las etapas:

15

(i) acoplar el compuesto de la fórmula (XVIII) con un compuesto de la fórmula (XIX) en donde X es OH en presencia de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU) y una amina terciaria en diclorometano;

(ii) llevar a cabo un intercambio de disolventes para sustituir el diclorometano por acetato de etilo; y

20

(iii) llevar a cabo un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo.

(3) La etapa de eliminación del grupo protector (f) comprende las etapas:

25

(i) tratar el compuesto de la fórmula (XX) con HCl en acetato de etilo;

(ii) añadir heptano a la mezcla de reacción; y

(iii) aislar por medio de cristalización el compuesto de la fórmula (XXI) como su sal de adición de HCl.

30

(4) La etapa de acoplamiento (g) comprende las etapas:

(i) acoplar el compuesto de la fórmula (XXI) con el ácido 2-pirazinocarboxílico en presencia de TBTU y una amina terciaria en diclorometano;

35

(ii) llevar a cabo un intercambio de disolventes para sustituir el diclorometano por acetato de etilo; y

(iii) llevar a cabo un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo.

(5) La etapa de desprotección del ácido borónico (h) comprende las etapas:

40

(i) proporcionar una mezcla bifásica que comprende el compuesto de la fórmula (XXIII), un aceptor de ácido borónico orgánico, un alcano inferior, un disolvente de hidrocarburo C₅₋₈ y un ácido mineral acuoso;

(ii) agitar la mezcla bifásica para obtener el compuesto de la fórmula (XIV);

45

(iii) separar las capas de disolvente; y

(iv) extraer el compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, en un disolvente orgánico.

50

Preferentemente, la etapa (h)(iii) comprende las etapas:

(1) separar las capas de disolvente;

55

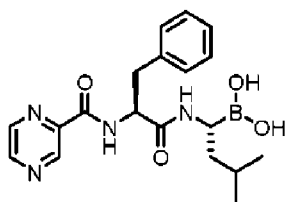
(2) ajustar la capa acuosa a un pH básico;

(3) lavar la capa acuosa con un disolvente orgánico; y

(4) ajustar la capa acuosa a un pH inferior a aproximadamente 6;

60

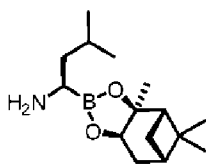
La divulgación también se refiere a un procedimiento a gran escala para formar un compuesto de la fórmula (XIV)



(XIV)

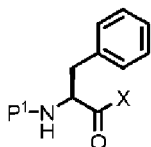
o un anhídrido de ácido borónico del mismo, que comprende las etapas:

- 5 (aa) acoplar un compuesto de la fórmula (XVIII):



(XVIII)

- 10 o una sal de adición ácida del mismo, con un compuesto de la fórmula (XIX):



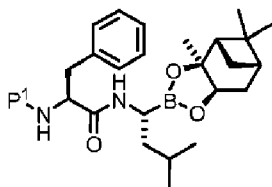
(XIX)

en donde:

- 15 P¹ es una fracción protectora de un grupo amino escindible; y

X es OH o un grupo saliente;

- 20 para formar un compuesto de la fórmula (XX):



(XX)

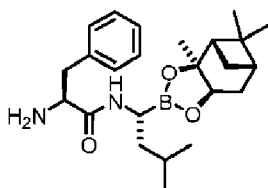
en donde P¹ es como se ha definido anteriormente, dicha etapa de acoplamiento (aa) comprende las etapas:

- 25 (i) acoplar el compuesto de la fórmula (XVIII) con un compuesto de la fórmula (XIX) en donde X es OH en presencia de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU) y una amina terciaria en diclorometano;

- 30 (ii) llevar a cabo un intercambio de disolventes para sustituir el diclorometano por acetato de etilo; y

(iii) llevar a cabo un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo;

(bb) eliminar el grupo protector P¹ para formar un compuesto de la fórmula (XXI):



(XXI)

35

o una sal de adición de ácido del mismo, dicho grupo de protección elimina la etapa (bb) que comprende las

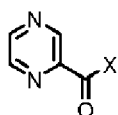
etapas:

(i) tratar el compuesto de la fórmula (XX) con HCl en acetato de etilo;

5 (ii) añadir heptano a la mezcla de reacción; y

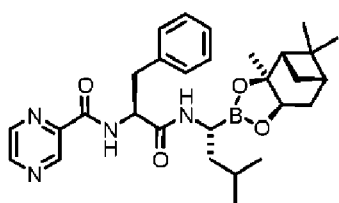
(iii) aislar por medio de cristalización el compuesto de la fórmula (XXI) como su sal de adición de HCl;

10 (cc) acoplar el compuesto de la fórmula (XXI) con un reactivo de la fórmula (XXII)



(XXII)

en donde X es un OH o un grupo saliente, para formar un compuesto de la fórmula (XXIII):



(XXIII),

dicha etapa de acoplamiento (cc) que comprende las etapas:

20 (i) acoplar el compuesto de la fórmula (XXI) con el ácido 2-pirazinocarboxílico en presencia de TBTU y una amina terciaria en diclorometano;

(ii) llevar a cabo un intercambio de disolventes para sustituir el diclorometano por acetato de etilo; y

25 (iii) llevar a cabo un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo; y

(dd) desproteger la fracción de ácido borónico para formar el compuesto de la fórmula (XIV) o un anhídrido de ácido borónico del mismo, dicha etapa de desprotección (dd) comprende las etapas:

30 (i) proporcionar una mezcla bifásica que comprende el compuesto de la fórmula (XXIII), un aceptor de ácido borónico orgánico, un alcano inferior, un disolvente de hidrocarburo C₅₋₈ y un ácido mineral acuoso;

(ii) agitar la mezcla bifásica para obtener el compuesto de la fórmula (XIV);

35 (iii) separar las capas de disolvente; y

(iv) extraer el compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, en un disolvente orgánico.

Preferentemente, la etapa (dd)(iii) comprende las etapas:

40 (1) separar las capas de disolvente;

(2) ajustar la capa acuosa a un pH básico;

45 (3) lavar la capa acuosa con un disolvente orgánico; y

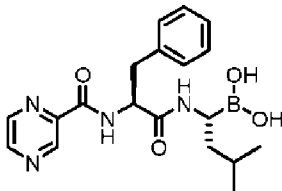
(4) ajustar la capa acuosa a un pH inferior a aproximadamente 6;

50 La eficiencia de los procedimientos descritos anteriormente se ve reforzada por el telescopado de etapas, por ejemplo, al llevar una mezcla de reacción o una solución de producto trabajada de una reacción directamente a la siguiente, sin aislar el producto intermedio. Por ejemplo, la etapa (e)(iii) o (aa)(iii) puede proporcionar una solución de acetato de etilo que comprende un compuesto de la fórmula (XX), y la solución de acetato de etilo se somete directamente en la etapa (f) o (bb) a condiciones eficaces para eliminar el grupo protector P¹. El grupo protector P¹ puede ser un grupo protector lábil al ácido, por ejemplo, *tert*-butoxicarbonilo (Boc), y la solución de acetato de etilo de la etapa (e)(iii) o (aa)(iii) se trata con ácido. La solución de acetato de etilo de la etapa (e)(iii) o (aa)(iii) se puede secar azeotrópicamente y luego tratarse con HCl gaseoso.

5 Cuando la etapa de desprotección (f) o (bb) se lleva a cabo en condiciones anhidras, como se ha descrito anteriormente, el producto de la fórmula (XXI) se puede aislar por medio de cristalización de la mezcla de reacción como su sal de adición de HCl. La cristalización de la sal del producto se promueve por medio de la adición de un disolvente hidrocarbonado, tal como n-heptano. La mezcla de reacción se puede concentrar parcialmente antes de añadir el disolvente de hidrocarburos. Los presentes inventores han descubierto que la cristalización del compuesto de la fórmula (XXI) de esta manera elimina eficazmente cualquier impureza tripeptídica que se pueda haber formado durante la etapa de acoplamiento (e) o (aa). Estas impurezas son difíciles de eliminar en las fases posteriores de la síntesis.

10 Es posible llevar a cabo una ampliación del procedimiento al llevar la mezcla de productos de la etapa de acoplamiento (g) o (cc) directamente a la etapa de desprotección de la fracción de ácido borónico (h) o (dd). Preferentemente, el disolvente orgánico de la reacción de acoplamiento se sustituye primero por acetato de etilo para facilitar los lavados acuosos. Un segundo intercambio de disolventes en un disolvente hidrocarbonado permite entonces utilizar la solución del producto de la etapa (g) o (cc) directamente en la etapa de desprotección del ácido borónico bifásico (h) o (dd), sin aislar el compuesto de la fórmula (XXIII).

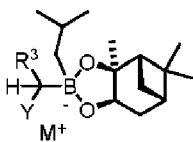
20 Alternativamente, se puede adoptar un enfoque más convergente para la síntesis del compuesto de la fórmula (XIV). Por lo tanto, en la presente memoria se divulga un procedimiento a gran escala para formar un compuesto de la fórmula (XIV)



(XIV)

25 o un anhídrido de ácido borónico del mismo. El procedimiento comprende las etapas:

(a) proporcionar un complejo de boro "nato" de la fórmula (XV):



(XV)

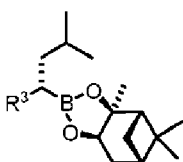
30 en donde:

R³ es un grupo nucleofúgico;

35 Y es un grupo nucleofúgico; y

M⁺ es un metal alcalino;

40 (b) poner en contacto el complejo de boro "nato" de la fórmula (XV) con un ácido de Lewis en condiciones que permitan obtener un compuesto de éster borónico de la fórmula (XVI):



(XVI)

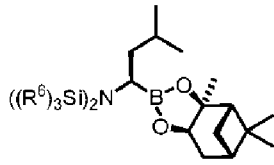
dicha etapa de contacto que se lleva a cabo en una mezcla de reacción que comprende:

45 (i) un disolvente de éter de coordinación de baja miscibilidad con el agua, o

(ii) un disolvente éter de baja miscibilidad con el agua y un cosolvente de coordinación;

50 (c) tratar el compuesto de éster borónico de la fórmula (XVI) con un reactivo de la fórmula M¹-N(Si(R⁶)₃)₂, donde M¹ es un metal alcalino y cada R⁶ se selecciona independientemente del grupo formado por alquilo, aralquilo

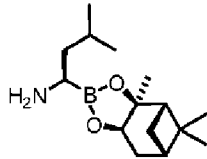
y arilo, donde la porción de arilo o aralquilo está opcionalmente sustituida, para formar un compuesto de la fórmula (XVII)



(XVII)

5

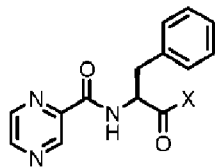
(d) eliminar los grupos $(R^6)_3Si$ para formar un compuesto de la fórmula (XVIII):



(XVIII)

10 o una sal de adición de ácido del mismo;

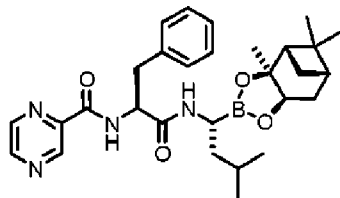
(e') acoplar el compuesto de la fórmula (XVIII) con un compuesto de la fórmula (XIXa):



(XIXa)

15

en donde X es OH o un grupo saliente, para formar un compuesto de la fórmula (XXIII):



(XXIII);

20 y

(f) la desprotección de la fracción de ácido borónico para formar el compuesto de la fórmula (XIV) o un anhídrido de ácido borónico del mismo.

25 En la presente memoria se divulga un procedimiento caracterizado por al menos una de las siguientes características (1) a (3). El procedimiento se puede caracterizar por los tres rasgos (1) a (3) que aparecen a continuación.

30 (1) En el complejo de boro "nato" de la fórmula (XV), R^3 e Y son ambos cloro.

(2) La etapa de acoplamiento (e') comprende las etapas:

35 (i) acoplar el compuesto de la fórmula (XVIII) con un compuesto de la fórmula (XIXa) en donde X es OH en presencia de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU) y una amina terciaria en diclorometano;

(ii) llevar a cabo un intercambio de disolventes para sustituir el diclorometano por acetato de etilo; y

40 (iii) llevar a cabo un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo.

(3) La etapa de desprotección del ácido borónico (f') comprende las etapas:

(i) proporcionar una mezcla bifásica que comprende el compuesto de la fórmula (XXIII), un aceptor de ácido borónico orgánico, un alcano inferior, un disolvente de hidrocarburo C_{5-8} y un ácido mineral acuoso;

(ii) agitar la mezcla bifásica para obtener el compuesto de la fórmula (XIV);

(iii) separar las capas de disolvente; y

(iv) extraer el compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, en un disolvente orgánico.

La etapa (f)(iii) puede comprender las etapas:

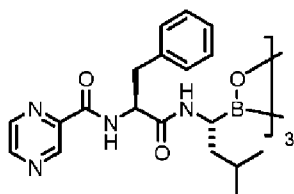
(1) separar las capas de disolvente;

(2) ajustar la capa acuosa a un pH básico;

(3) lavar la capa acuosa con un disolvente orgánico; y

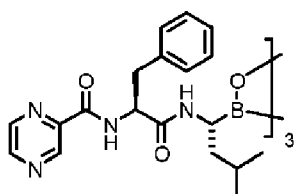
(4) ajustar la capa acuosa a un pH inferior a aproximadamente 6;

En la etapa (h)(iv), (dd)(iv), o (f)(iv) de los procedimientos descritos anteriormente, el compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se extrae preferentemente en acetato de etilo y se cristaliza por adición de hexano o heptano. El procedimiento además puede comprender el aislamiento de un anhídrido de ácido borónico del compuesto de la fórmula (XIV), preferentemente un anhídrido de ácido borónico trimérico de la fórmula (XXIV):



(XXIV)

Los procedimientos divulgados en la presente memoria permiten la fabricación a gran escala de bortezomib de muy alta pureza química y estereoquímica. Los procedimientos de la técnica anterior tenían una escala limitada y ofrecían un producto de menor pureza general. También en la presente memoria se divulga una composición que comprende al menos un kilogramo de un compuesto de la fórmula (XXIV):



(XXIV)

El compuesto de la fórmula (XXIV) se prepara preferentemente según el procedimiento descrito anteriormente, y constituye preferentemente al menos el 99% p/p de la composición.

Ejemplos

Abreviaturas

BOC	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
D.I.	desionizado
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
GC	cromatografía de gases
GC-MS	cromatografía de gases-espectrometría de masas
h	horas
HDPE	polietileno de alta densidad
HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
LDA	diisopropilamida de litio

ES 2 974 758 T3

LOD	pérdida por secado
min	minutos
MTBE	éter metílico de <i>t-butilo</i>
RP-HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa
RPM	revoluciones por minuto
TBTU	Tetrafluoroborato de <i>O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio
THF	tetrahidrofurano

Ejemplo 1: Procedimiento de Fabricación del trifluoroacetato de 1-amonio (1*R*)-(S)-pinandiol-3-metilbutano-1-boronato (proporcionado como referencia)

5 (1*S*)-(S)-pinandiol-1-cloro-3-metilbutano-1-boronato

1. Se cargó (S)-pinandiol-2-metilpropano-1-boronato (12,0 kg, 50,8 moles) en un recipiente de reacción mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno.
- 10 2. Se cargaron *tert-butil-metil-éter* (53 kg) y diclorometano (22,5 kg) y la mezcla resultante se enfrió a -57 °C con agitación.
3. Se cargó diisopropilamina (6,7 kg) en otro recipiente de reacción mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno.
- 15 4. Se cargó *tert-butil-metil-éter* (27 kg) a la diisopropilamina y la mezcla resultante se enfrió a -10 °C con agitación.
5. A la mezcla de diisopropilamina se añadió n-hexilitio en hexano (solución al 33,2% en peso) (17,6 kg) durante 57 minutos, mientras la temperatura de reacción se mantenía entre -10 °C y -7 °C.
- 20 6. Esta mezcla (mezcla de LDA) se agitó durante 33 minutos a una temperatura de -9 °C a -7 °C antes de ser utilizada.
7. Se cargó cloruro de zinc (12,1 kg) en un tercer recipiente de reacción mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno.
- 25 8. Se cargó cloruro de zinc con éter *tert-butílico* (16 kg) y la mezcla resultante se calentó a 30 °C con agitación.
9. Se añadió tetrahidrofurano (53 kg) a la suspensión de cloruro de zinc durante 18 minutos, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 35 °C y 40 °C.
- 30 10. Esta mezcla (mezcla de ZnCl₂) se agitó durante 4 horas y 28 minutos a una temperatura de 38 °C a 39 °C hasta su utilización.
- 35 11. La mezcla de LDA (de # 3 a 6) se añadió durante un periodo de 60 minutos al recipiente de reacción que contenía (S)-pinandiol-2-metilpropano-1-boronato, mientras la temperatura de reacción se mantenía entre -60 °C y -55 °C.
12. Para completar la adición se utilizó un enjuague de *tert-butil-metil-éter* (10 kg).
- 40 13. La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos más a una temperatura de -59 °C a -55 °C.
14. La mezcla de reacción se calentó a -50 °C durante 11 minutos.
- 45 15. La mezcla de ZnCl₂ (de # 7 a 10) se añadió durante 48 minutos al recipiente de reacción que contenía (S)-pinandiol-2-metilpropano-1-boronato y la mezcla de LDA, mientras la temperatura de reacción se mantenía entre -50 °C y -45 °C.
16. Para completar la adición se utilizó un enjuague de *tert-butil-metil-éter* (10 kg).
- 50 17. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos más a una temperatura de -45 °C a -40 °C y luego se calentó a 10 °C durante un periodo de 81 minutos.
18. Se añadió al recipiente de reacción una solución de ácido sulfúrico al 10% (72 kg) durante 40 minutos, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 10 °C y 21 °C.
- 55

ES 2 974 758 T3

19. La mezcla de reacción se agitó durante 16 minutos a temperatura ambiente, antes de separar la fase acuosa.
- 5 20. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua desionizada (D.I.) (32 kg), y solución de cloruro de sodio al 10% (26,7 kg), cada lavado implicó una agitación vigorosa durante 15 a 17 minutos a temperatura ambiente.
- 10 21. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida ($p_{\min} = 81$ mbar), manteniendo una temperatura externa (chaqueta/baño) de 50 °C a 55 °C, para proporcionar un residuo que se disolvió en metilciclohexano (56 kg).
- 15 22. La mezcla de reacción se sometió a reflujo (en un condensador tipo Dean-Stark para la separación de agua) a presión reducida ($p_{\min} = 67$ mbar), manteniendo una temperatura externa (chaqueta/baño) de 50 °C a 55 °C durante 2 horas y 7 minutos, hasta que no se separó más agua.
- 20 23. Se destilaron unos 35 L de los disolventes a presión reducida ($p_{\min} = 81$ mbar), manteniendo una temperatura externa (chaqueta/baño) de 50 °C a 55 °C.
24. La mezcla seca resultante de metilciclohexano que contenía (15)-(S)-pinandiol-1-cloro-3-metilbutano-1-boronato se enfrió a 14 °C.
- (1R)-(S)-pinandiol-1-bis(trimetilsilil)amino-3-metilbutano-1-boronato
- 25 1. Se cargó bis(trimetilsilil)amida de litio en tetrahidrofurano (solución al 19,4% en peso), (41,8 kg) en un recipiente de reacción mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno y enfriado a -19 °C con agitación.
2. La mezcla de metilciclohexano que contenía (1S)-(S)-pinandiol-1-cloro-3-metilbutano-1-boronato se añadió durante 55 minutos, mientras la temperatura de reacción se mantenía entre -19 °C y -13 °C.
- 30 3. Se utilizó un enjuague de metilciclohexano (5 kg) para completar la adición.
4. La mezcla de reacción se agitó durante 65 minutos más a una temperatura de -13 °C a -12 °C y luego se calentó a 25 °C durante un periodo de 25 minutos.
- 35 5. Se añadió a la mezcla de reacción una suspensión de Celite (2,5 kg) en metilciclohexano (22 kg).
- 40 6. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida ($p_{\min} = 25$ mbar), manteniendo una temperatura externa (chaqueta/baño) de 45 °C a 50 °C, para proporcionar un residuo que se disolvió en metilciclohexano (36 kg).
7. A continuación, se extrajo una muestra para comprobar el contenido de tetrahidrofurano durante el procedimiento por medio de CG.
- 45 8. El ensayo de tetrahidrofurano fue del 0,58%.
9. Los sólidos se eliminaron por medio de filtración, el filtrado se filtró a través de un tapón de gel de sílice (2,0 kg).
- 50 10. Ambas unidades de filtrado se lavaron con éter isopropílico (30 kg).
11. La mezcla resultante de metilciclohexano/éter isopropílico que contenía (1R)-(S)-pinandiol-1-bis(trimetilsilil)amino-3-metilbutano-1-boronato se almacenó en un recipiente a temperatura ambiente hasta que se utilizó en la siguiente etapa.
- 55 (1R)-(S)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato
1. Se cargó ácido trifluoroacético (12 kg) en otro recipiente de reacción mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno.
- 60 2. Se cargó éter isopropílico (78 kg) al ácido trifluoroacético y la mezcla resultante se enfrió a -10 °C con agitación.
- 65 3. La mezcla de metilciclohexano/éter isopropílico que contenía (1R)-(S)-pinandiol-1-bis(trimetilsilil)amino-3-metilbutano-1-boronato se añadió durante un periodo de 53 minutos provocando la precipitación del producto, mientras que la temperatura de reacción se mantuvo entre -10 °C y -5 °C.

4. Se utilizó un enjuague de éter isopropílico (5 kg) para completar la adición.
5. La mezcla de reacción se agitó durante otras 8 horas y 20 minutos a -9 °C a -7 °C.
- 5 6. El sólido se recogió por medio de filtración, se lavó con éter isopropílico (70 kg) en dos porciones y se secó a presión reducida ($p_{\min} = 56$ mbar) a 41 °C a 42 °C durante 2 horas y 15 minutos.
7. El sólido se agitó con agua D.I. (60 kg) durante 24 minutos a temperatura ambiente, antes de eliminar el agua D.I. por medio de filtración.
- 10 8. El sólido se lavó con agua D.I. (12 kg).
9. A continuación, el sólido se secó al vacío ($p_{\min} = 4$ mbar) a una temperatura de 40 °C a 44 °C durante 9 horas y 22 minutos, tras lo cual la pérdida por desecación fue del 0,51%, lo que cumple el requisito del $\leq 1\%$.
- 15 10. El intermedio, (1*R*)-(S)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato, crudo, se envasó en bolsas de polietileno individuales en bidones de polipropileno y se etiquetó. El rendimiento fue del 72%.

Recristalización de (1*R*)-(S)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato, crudo

- 20 1. (1*R*)-(S)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato, crudo, (13 kg) se cargó en un recipiente de reacción mantenido bajo atmósfera de nitrógeno.
- 25 2. Se cargó ácido trifluoroacético (31 kg) en el recipiente de reacción y la mezcla resultante se enfrió a 4 °C con agitación.
3. Una vez disuelto todo el sólido, dejando una mezcla ligeramente turbia, se añadió éter isopropílico (29 kg) durante 57 minutos, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 2 °C y 3 °C.
- 30 4. Tras la adición completa, la mezcla se filtró a través de un filtro en un recipiente receptor mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno.
5. El reactor y el filtro se lavaron con una mezcla de ácido trifluoroacético (3,8 kg) y éter isopropílico (5 kg). El enjuague se añadió al filtrado.
- 35 6. Se añadió éter isopropílico (126 kg) durante 15 minutos, provocando la precipitación del producto, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 16 °C y 18 °C.
7. La mezcla se agitó entre 16 °C y 18 °C durante 15 minutos, luego se enfrió a -5 °C durante 67 minutos y se agitó entre -3 °C y -5 °C bajo atmósfera de nitrógeno durante 89 minutos.
- 40 8. A continuación, el sólido se aisló por medio de filtración, se lavó con éter isopropílico (48 kg) en dos porciones y se secó al vacío ($p_{\min} = 2$ mbar) a 34 °C a 40 °C durante 2 horas y 55 minutos, tras lo cual la pérdida por desecación fue del 0,32%, lo que cumple el requisito de $\leq 0,5\%$.
- 45 9. El producto, (1*R*)-(S)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato, se envasó en bolsas dobles de polietileno en bidones de fibra y se etiquetó. El rendimiento fue del 86%.

50 Ejemplo 2: Procedimiento de Fabricación del anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina (proporcionado como referencia)

(1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-pinandiol-N-BOC-L-fenilalanina-L-leucina boronato

- 55 1. En una campana de humos, se enjuagó con nitrógeno un matraz de reacción de vidrio de tres cuellos equipado con un registrador de temperatura de cabeza Claisen y un agitador mecánico.
2. (1*R*)-(S)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato (2,0 kg), se cargó en el matraz.
3. Se cargó el matraz con BOC-L-fenilalanina (1,398 kg).
- 60 4. Se cargó en el matraz 2-(1*H*-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil tetrafluoroborato de uronio, TBTU (1,864 kg).
5. Se cargó el matraz con diclorometano (15,8 L).
- 65 6. El motor de agitación se ajustó para proporcionar agitación a 260 RPM.

ES 2 974 758 T3

7. Mediante el uso de un baño de enfriamiento de hielo/agua, la mezcla de reacción se enfrió a 1,0 °C, manteniendo una atmósfera de nitrógeno.
- 5 8. Se cargó N,N-Diisopropiletilamina (2,778 L) en un matraz de vidrio y se transfirió a la mezcla de reacción durante un periodo de 117 minutos mediante el uso de una bomba peristáltica manteniendo un intervalo de temperatura de reacción de 0,7 °C a 2,1 °C. La velocidad de adición global fue de 23,7 mL/min.
- 10 9. Se utilizó un enjuague de diclorometano (0,2 L) del matraz en la mezcla de reacción para completar la adición.
10. La mezcla de reacción se agitó durante 35 minutos más. La temperatura al inicio del tiempo de agitación era de 1,8 °C y de 2,5 °C al final.
- 15 11. A continuación, se extrajo una muestra para su análisis en procedimiento por medio de cromatografía líquida de alta eficacia en fase inversa (RP-HPLC). Se determinó que el porcentaje de conversión era del 99,3%.
- 20 12. La mezcla de reacción se transfirió en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces de evaporación rotativa. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida mediante el uso de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura del baño externo de 29 a 30 °C.
- 25 13. El acetato de etilo (4,0 L) se dividió en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces del rotavapor.
14. Las mezclas de cada matraz se concentraron de nuevo a presión reducida mediante el uso de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura de baño externa de 29 a 30 °C.
- 30 15. Los residuos de cada matraz del rotavapor se transfirieron de nuevo al matraz de reacción con acetato de etilo (13,34 L).
- 35 16. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución acuosa de ácido fosfórico al 1% por medio de la mezcla de agua D.I. (13,18 L) y ácido fosfórico (0,160 kg).
- 40 17. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución acuosa de carbonato de potasio al 2% (12,0 L) por medio de la mezcla de agua D.I. (11,76 L) y carbonato de potasio (0,24 kg).
18. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución acuosa de cloruro de sodio al 10% (13,34 L) por medio de la mezcla de agua D.I. (13,34 L) y cloruro de sodio (1,334 kg).
- 45 19. Se cargó agua D.I. (13,34 L) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y se agitó la mezcla a 380 RPM durante 7 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa (capa inferior) se transfirió al vacío a un matraz adecuado y se desechó.
- 50 20. De nuevo, se cargó agua D.I. (13,34 L) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y se agitó la mezcla a 385 RPM durante 7 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa (capa inferior) se transfirió al vacío a un matraz adecuado y se desechó.
- 55 21. La solución de ácido fosfórico al 1% preparada en la Etapa 16 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 365 RPM durante 7 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa ácida (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
22. La solución de carbonato de potasio al 2% preparada en la Etapa 17 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 367 RPM durante 7 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa básica (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 60 23. La solución de cloruro de sodio al 10% preparada en la Etapa 18 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 373 RPM durante 6 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 65 24. La solución de acetato de etilo se transfirió a un matraz de evaporación rotativa y se concentró a presión reducida mediante el uso de un evaporador rotativo, manteniendo una temperatura de baño de 29 a 30 °C, para proporcionar un residuo.
25. El residuo se volvió a disolver en acetato de etilo (4,68 L).

ES 2 974 758 T3

26. La solución se concentró al vacío mediante el uso de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura de baño de 29 a 30 °C, para proporcionar de nuevo un residuo.

5 27. A continuación, el residuo se redisolvió en acetato de etilo (4,68 L) y se tomaron dos muestras para determinar el contenido de agua por medio de la valoración de Karl Fisher. El contenido de agua de dos muestras se determinó como 0,216% y 0,207%.

10 28. Con otra cantidad de acetato de etilo (12,66 L), la mezcla se transfirió del matraz del evaporador rotatorio a un matraz de reacción seco equipado con un registrador de temperatura, un agitador mecánico y un tubo de dispersión de gas fritado, y se purgó con nitrógeno.

(1S,2S,3R,5S)-pinandiol-L-fenilalanina-L-leucina boronato, sal de HCl

15 1. La solución de acetato de etilo que contenía (1S,2S,3R,5S)-pinandiol-N-BOC-L-fenilalanina-L-leucina boronato se enfrió mediante el uso de un baño de enfriamiento de hielo/agua hasta -0,9 °C.

2. Se burbujeó gas de cloruro de hidrógeno (1,115 kg) en la mezcla de reacción durante 1,48 horas. La temperatura al inicio de la adición era de -0,9 °C y de 6,8 °C al final.

20 3. A continuación, se dejó que la reacción se calentara hasta los 14,4 °C durante 50 minutos, manteniendo una atmósfera de nitrógeno.

25 4. Se extrajo una muestra para llevar a cabo una prueba en procedimiento por medio de RP-HPLC. El porcentaje de conversión fue del 68,9% (% de área).

5. La reacción se agitó durante 35 minutos. La temperatura al inicio era de 14 °C, y de 14,8 °C al final.

30 6. Se extrajo una muestra para llevar a cabo una prueba en procedimiento por medio de RP-HPLC. El porcentaje de conversión fue del 94,7% (% de área).

7. La reacción se agitó durante aproximadamente otros 50 minutos, manteniendo una temperatura de 10 °C ± 5 °C.

35 8. Se extrajo una muestra para llevar a cabo una prueba en procedimiento por medio de RP-HPLC. El porcentaje de conversión fue del 97,3%.

9. La reacción se agitó durante aproximadamente otros 50 minutos, manteniendo una temperatura de 10 °C ± 5 °C. La temperatura final fue de 14,6 °C.

40 10. Se extrajo una muestra para llevar a cabo una prueba en procedimiento por medio de RP-HPLC. El tiempo total de reacción tras la adición del gas cloruro de hidrógeno fue de cuatro (4) horas.

11. El porcentaje de conversión fue del 99%.

45 12. Se ha observado una suspensión espesa.

13. se cargó n-Heptano (8,8 L) a la mezcla de reacción.

50 14. La suspensión espesa se agitó durante 2 horas. La temperatura al inicio del tiempo de agitación era de 12,7 °C y de 15,3 °C al final.

15. El sólido se aisló por medio de filtración en un embudo Buchner forrado con una almohadilla filtrante de fieltro de polipropileno.

55 16. El sólido se lavó con n-heptano (4,68 L).

17. En una campana, el sólido se transfirió a tres bandejas de secado a no más de 1" de profundidad y se secó al aire durante 1 hora.

60 18. A continuación, el sólido se secó a ≤35 °C bajo un vacío de 27" de Hg durante 16 horas y 28 minutos en una estufa de vacío equipada con un vacuómetro y un registrador de temperatura.

19. Se tomaron muestras del sólido de cada bandeja de secado para determinar el % de Pérdida por Secado. Se determinó que el LOD era de 0%, 0,02% y 0,02% en las tres muestras tomadas.

65 20. (1S,2S,3R,5S)-pinandiol-L-fenilalanina-L-leucina boronato, sal de HCl se envasó en bolsas dobles de

ES 2 974 758 T3

polietileno en bidones de fibra y se etiquetó, y se tomaron muestras.

21. El rendimiento aislado fue de 1,87 kg, 79,1%. El intermedio se almacenó a 2 a 8 °C hasta su utilización en la fabricación posterior.

5

(1S,2S,3R,5S)-pinandiol-N-(2-pirazincarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina boronato

1. En una campana de humos, se enjuagó con nitrógeno un matraz de reacción de vidrio de tres cuellos equipado con un cabezal Claisen, un registrador de temperatura y un agitador mecánico.

10

2. (1S,2S,3R,5S)-pinandiol-L-fenilalanina-L-leucina boronato, sal de HCl (1,85 kg) se cargó en el matraz.

3. El ácido 2-pirazinecarboxílico (0,564 kg) se cargó en el matraz.

15

4. Se cargó en el matraz 2-(H-Benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil tetrafluoroborato de uronio, TBTU (1,460 kg).

5. Se cargó el matraz con diclorometano (18,13 L).

20

6. El motor de agitación se ajustó para proporcionar agitación a 272 RPM.

7. Mediante el uso de un baño de enfriamiento, la mezcla de reacción se enfrió a -1,2 °C.

25

8. Se cargó N,N-Diisopropiletilamina (1,865 kg) en un matraz de vidrio y se transfirió a la reacción durante un período de 50 minutos mediante el uso de una bomba peristáltica manteniendo un intervalo de temperatura de reacción de -1,2 °C a 2,8 °C.

9. Para completar la adición se utilizó un enjuague de diclorometano (0,37 L) del matraz en la mezcla de reacción.

30

10. La mezcla de reacción se dejó calentar y se agitó durante 81 minutos más.

11. La temperatura al inicio del tiempo de agitación era de 15 °C y de 24,9 °C al final.

35

12. A continuación, se extrajo una muestra para llevar a cabo una prueba en procedimiento por medio de RP-HPLC. Se determinó que el porcentaje de conversión era del 99,9%.

13. La mezcla de reacción se transfirió en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces de evaporación rotativa. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida mediante el uso de dos evaporadores rotatorios, manteniendo una temperatura de baño externa de 33 a 34 °C.

40

14. El acetato de etilo (12,95 L) se dividió en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces del rotavapor.

45

15. A continuación, las mezclas de cada matraz se concentraron a presión reducida por medio de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura de baño externa de 33 a 34 °C.

16. Los residuos de cada matraz del rotavapor se transfirieron de nuevo al matraz de reacción con acetato de etilo (12,95 L).

50

17. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución acuosa de ácido fosfórico al 1% (12,34 L) por medio de la mezcla de agua D.I. (12,19 L) y ácido fosfórico (0,148 kg).

55

18. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución acuosa de carbonato de potasio al 2% (12,34 L) por medio de la mezcla de agua D.I. (12,09 L) y carbonato de potasio (0,247 kg).

19. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución acuosa de cloruro de sodio al 10% (12,34 L) por medio de la mezcla de agua D.I. (12,34 L) y cloruro de sodio (1,234 kg).

60

20. Se cargó agua D.I. (12,34 L) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y se agitó la mezcla a 382 RPM durante 7 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

65

21. De nuevo, se cargó agua D.I. (12,34 L) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y se agitó la mezcla a 398 RPM durante 7 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

22. La solución de ácido fosfórico al 1% preparada en la Etapa 17 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 364 RPM durante 8 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa ácida (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

5 23. La solución de carbonato de potasio al 2% preparada en la Etapa 18 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 367 RPM durante 8 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa básica (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

10 24. La solución de cloruro de sodio al 10% preparada en la Etapa 19 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 374 RPM durante 8 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase acuosa (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

15 25. La solución de acetato de etilo se transfirió al vacío en aproximadamente dos mitades iguales a dos matraces de evaporación rotativa y se concentró a presión reducida mediante el uso de un evaporador rotativo, manteniendo una temperatura de baño externa de 34 °C.

20 26. Se dividió n-heptano (14,8 L) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces del rotavapor. A continuación, las mezclas de cada matraz se concentraron a presión reducida por medio de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura de baño externa de 34 °C.

Anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina, crudo

25 1. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución 1N de ácido clorhídrico (22,2 L) por medio de la mezcla de agua D.I. (20,36 L) y ácido clorhídrico (1,84 kg).

2. En un matraz de vidrio equipado con un agitador, se preparó una solución de hidróxido de sodio 2N (12,03 L) por medio de la mezcla de agua D.I. (12,03 L) e hidróxido de sodio (0,962 kg).

30 3. Los residuos que contenían (1S,2S,3R,5S)-pinandiol-N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina boronato en cada matraz del rotavapor se transfirieron a un matraz de reacción de vidrio de tres cuellos equipado con un registrador de temperatura y un agitador mecánico, mediante el uso de n-heptano (14,8 L) y metanol (14,8 L).

35 4. El motor de agitación se ajustó para proporcionar agitación a 284 RPM.

5. El ácido 2-metilpropanoborónico (0,672 kg) se cargó en el matraz.

6. El ácido clorhídrico 1N preparado en la Etapa 1 (11,2 L) se cargó en el matraz.

40 7. El motor de agitación se ajustó para proporcionar agitación a 326 RPM.

8. La mezcla de reacción se agitó durante 16,38 horas. La temperatura inicial del lote fue de 28,6 °C y la final de 21,6 °C.

45 9. A continuación, se extrajo una muestra para llevar a cabo una prueba en procedimiento por medio de RP-HPLC.

10. Se determinó que el porcentaje de conversión era del 100%.

50 11. Se detuvo la agitación y se dejó que la mezcla bifásica se separara.

12. La capa de n-heptano (capa superior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

55 13. Se cargó n-Heptano (5,37 L) al matraz de reacción y la mezcla se agitó a 381 RPM durante 6 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase de n-heptano (capa superior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

60 14. De nuevo, se cargó n-heptano (5,37 L) en el matraz de reacción y la mezcla se agitó a 340 RPM durante 6 minutos. Se dejó que las capas se separaran y la fase de n-heptano (capa superior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

65 15. La solución acuosa de metanol se transfirió en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces de evaporación rotativa y se concentró a presión reducida mediante el uso de un evaporador rotativo, manteniendo una temperatura de baño externa de 33 a 34 °C. Se recogieron 15 L de metanol.

16. Se utilizó diclorometano (5,37 L) para transferir el residuo de los matraces del rotavapor de nuevo al matraz

ES 2 974 758 T3

de reacción.

17. El hidróxido de sodio 2N (11,2 L) preparado en la Etapa 2 se cargó en el matraz.

5 18. La capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

19. Se cargó el matraz con diclorometano (5,37 L) y la mezcla se agitó a 374 RPM durante 6 minutos. Se dejó que las fases se separaran y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

10

20. De nuevo, se cargó diclorometano, (5,37 L) en el matraz y la mezcla se agitó a 368 RPM durante 8 minutos. Se dejó que las fases se separaran y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.

15

21. Se cargó el matraz con diclorometano (5,37 L).

22. Se cargó ácido clorhídrico 1N (10,7 L) en el matraz con agitación. El pH de la fase acuosa se determinó en 6.

20

23. Se interrumpió la agitación y se dejó que las fases se separaran.

24. La fase de diclorometano (capa inferior) se transfirió bajo vacío a un matraz receptor de vidrio.

25

25. Se cargó el matraz con diclorometano (5,37 L) y la mezcla se agitó a 330 RPM durante 6 minutos. Se dejó que las fases se separaran y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió al matraz receptor de vidrio.

26. De nuevo, se cargó diclorometano, (5,37 L) en el matraz y la mezcla se agitó a 335 RPM durante 6 minutos. Se dejó que las fases se separaran y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió al matraz receptor de vidrio.

30

27. Los extractos de diclorometano se combinaron y se transfirieron en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces de evaporación rotatoria y se concentraron a presión reducida mediante el uso de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura de baño externa de 33 a 34 °C.

35

28. El acetato de etilo (12,95 L) se dividió en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces del rotavapor. A continuación, las mezclas de cada matraz se concentraron a presión reducida por medio de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura de baño externa de 45 a 46 °C.

40

29. De nuevo, se dividió el acetato de etilo (12,95 L) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces de evaporación rotativa. A continuación, las mezclas de cada matraz se concentraron a presión reducida por medio de un evaporador rotatorio, manteniendo una temperatura de baño externa de 45 a 46 °C, hasta que quedara aproximadamente un 10% del volumen original.

45

30. Se dividió el n-heptano (10,2 L) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces del rotavapor, y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno durante 2,67 horas a 22 a 23 °C.

31. El sólido se aisló por medio de filtración en un embudo Buchner, forrado con una almohadilla filtrante de fieltro de polipropileno.

50

32. El sólido se lavó con n-heptano (2,96 L).

33. En una campana, el sólido se transfirió a cuatro bandejas de secado y se secó al aire durante 1,25 horas.

55

34. A continuación, el sólido se secó a 36 a 50 °C bajo un vacío de 27" de Hg durante 18 horas y 27 minutos en una estufa de vacío equipada con un vacuómetro y un registrador de temperatura.

35. Se tomaron muestras del sólido de cada bandeja para determinar el % de Pérdida por Secado (LOD). Se determinó que el LOD era de 0,38%, 0,62%, 0,71% y 0,63% en las cuatro muestras tomadas.

60

36. El anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina, en bruto, se envasó en dos botellas de boca ancha de 5L, de HDPE, a prueba de manipulaciones, y se etiquetó.

37. El rendimiento aislado fue de 1,314 kg, 83%.

65

Recristalización del anhídrido borónico N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina, crudo

ES 2 974 758 T3

1. En una campana, se enjuagó con nitrógeno un matraz de reacción de vidrio equipado con un agitador mecánico, un condensador de reflujo y un registrador de temperatura.
- 5 2. Se cargó el matraz con acetato de etilo (21 L).
3. El acetato de etilo se calentó a 66,8 °C bajo una atmósfera de nitrógeno, mediante el uso de un baño de agua caliente/vapor.
- 10 4. El anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina, crudo (1,311 kg) se cargó lentamente en el matraz de reacción. La carga se produjo durante un período de 3 minutos.
5. La mezcla se agitó durante 1 minuto hasta que se disolvió todo el sólido. La temperatura de la solución era de 64 °C.
- 15 6. Se retiró la fuente de calor y la mezcla se enfrió lentamente hasta 60 °C mediante el uso de un baño frío.
7. La solución de acetato de etilo caliente se transfirió a un matraz receptor a través de un tubo de polietileno y una cápsula filtrante en línea de polipropileno mediante el uso de una bomba peristáltica.
- 20 8. La mezcla se dejó enfriar hasta los 27,2 °C y se dejó reposar bajo una atmósfera de nitrógeno, sin agitación, durante 17,75 horas. La temperatura final se registró como 20,5 °C.
9. La mezcla se enfrió por medio de un baño de hielo/agua con agitación durante 2,33 horas. La temperatura al inicio del tiempo de agitación era de 3,8 °C y de -2,8 °C al final.
- 25 10. El sólido se aisló por medio de filtración en un embudo Buchner forrado con una almohadilla filtrante de fieltro de polipropileno. El filtrado se recogió en un matraz de recogida.
11. El sólido se lavó con acetato de etilo (2,62 L) y se enfrió a 4,7 °C.
- 30 12. En una campana, el sólido se transfirió a dos bandejas de secado.
13. A continuación, el sólido se secó a 51 a 65 °C bajo un vacío de 27" de Hg durante 19 horas y 10 minutos en una estufa de vacío equipada con un vacuómetro y un registrador de temperatura.
- 35 14. Se tomaron muestras del sólido para determinar el % de Pérdida por Secado (LOD). Se determinó que el LOD era de 0,65 % y 0,62 % en las dos muestras tomadas.
15. El anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina se envasó en cuatro botellas ámbar de boca ancha de 1L, tipo 3, con tapones forrados de teflón, y se etiquetó.
- 40 16. El rendimiento aislado fue de 1,132 kg, 86,3%.
17. El anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina se almacenó entre -25 y -15 °C.
- 45

Ejemplo 3: Anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina Síntesis convergente

(1S,2S,3R,5S)-pinandiol-N-(2-pirazincarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina boronato

- 50 Una solución de (1R)-(S)-Pinediol 1-amonio trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronatoboronato (13,97 g) y N-hidroxisuccinimida (6,23 g) en 66 mL de DMF se enfrió a -5 °C, seguida por la adición de dicitohexilcarbodiimida (10,83 g). La suspensión resultante se agitó durante una hora a una temperatura de -5 a 0 °C. A una solución de N-(2-pirazincarbonil)-L-fenilalanina (19,52 g; preparada por medio del acoplamiento del éster succinimídico preformado del ácido pirazincarboxílico con L-fenilalanina en dioxano-agua) en 62 mL
- 55 de DMF se añadió N-metilmorfolina (5,7 mL) a una temperatura de 0 °C, y la solución resultante se añadió a la suspensión. La suspensión se ajustó a pH 7 por medio de la adición de otros 5,7 mL de N-metilmorfolina y se agitó durante toda la noche, elevando la temperatura lentamente hasta 21 °C. Tras la filtración, la torta de filtración se lavó dos veces con MTBE y los filtrados combinados se diluyeron con 950 mL de MTBE. La capa orgánica se lavó con ácido cítrico acuoso al 20% (3 × 150 mL), NaHCO₃ acuoso al 20% (3 × 150 mL) y salmuera (2×). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró, obteniéndose 25,5 g (95,5%) del compuesto del título en forma de espuma. Como se indica por tlc, este material contenía algunas impurezas
- 60 menores, incluyendo aproximadamente un 2% de ciclohexil urea.

Anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina

- 65 Una solución de (1S,2S,3R,5S)-pinandiol-N-(2-pirazincarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina boronato (25,2 g) en

- 207 mL de MeOH y 190 mL de hexano se enfrió a 15 °C, y se añadieron 109,4 mL de 1N HCl en porciones, manteniendo la temperatura entre 15 y 25 °C. A continuación se añadió ácido 2-metilpropanoborónico (8,67 g) bajo agitación vigorosa, y se continuó la agitación de la mezcla bifásica durante la noche. Tras la separación de las dos fases, la capa inferior se extrajo una vez con 75 mL de hexano. La capa inferior se concentró al vacío hasta que se volvió turbia, y a continuación se añadieron 109,4 mL de NaOH 2N y 100 mL de Et₂O. Las dos fases se separaron, la capa inferior se extrajo con Et₂O (4 × 100 mL cada una), y luego se llevó a pH 6,0 por medio de la adición de 109 mL de 1N HCl. Tras la extracción con 100 mL de acetato de etilo, la capa inferior se ajustó a pH 6,0 con 1N HCl y se extrajo una vez más con 75 mL de acetato de etilo. Las capas combinadas de acetato de etilo se lavaron con salmuera semisaturada (2 × 25 mL) y salmuera (2 × 25 mL), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para obtener 15,3 g (81,8 %) de anhídrido borónico de N-(2-pirazinocarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina en bruto como espuma. El material crudo se disolvió en 150 mL de acetato de etilo y se concentró al vacío hasta obtener una suspensión, seguida por la adición de 150 mL de MTBE. La suspensión se almacenó entre 2 y 8 °C durante la noche, se filtró, se lavó dos veces con MTBE y se secó a alto vacío, obteniéndose 10,69 g (57,2%) de N-(2-pirazinocarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina anhídrido borónico como sólido blanco.

Ejemplo 4: Medición de la Relación Diastereomérica del (1*R*)-(1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-pinandiol-1-amoniotrifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato

- 20 La pureza diastereomérica del (1*R*)-(1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-pinandiol-1-amoniotrifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato (compuesto 1) se determinó por medio de cromatografía de gases (GC) no quiral.

Químicos: Acetonitrilo (p.a. Bruker o equivalente) Tetradecano (estándar interno) (Fluka puriss. o equivalente) Anhídrido trifluoroacético (TFAA) (p.a. Merck o equivalente)

Instrumento: Sistema Trace-GC 2000 o equivalente

Fase móvil: H₂

Disolvente A (con estándar interno) Se pesaron aproximadamente 300 mg de tetradecano con una precisión de 0,1 mg en un matraz volumétrico de 100 mL. Se añadieron 1,5 mL de TFAA y el matraz se llevó a volumen con acetonitrilo.

Preparación de la Muestra: Se pesaron exactamente unos 150 mg de la muestra (con una precisión de 0,1 mg) en un matraz aforado de 10 mL. El matraz se llevó a volumen con el disolvente A. La solución se guardó durante 15 minutos antes de la inyección.

Parámetros GC:

Columna: Rtx-200; película de 105m × 0,25 mm i.d. × 0,25 μm

Fase móvil: H₂

Programa de temp.: 130 °C (0,5 min); 0,5 °C/min a 200 °C (0 min); 30 °C/min a 300 °C (2 min)

Flujo: 0,9 mL/min (flujo constante)

Temperatura del inyector: 250 °C

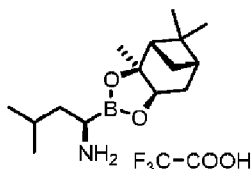
Temperatura del detector: 250 °C (FID)

División: 1:50

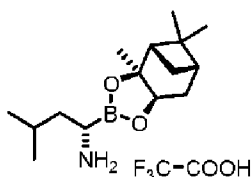
Volumen de inyección: 1 μL

Sustancias

Compuesto 1 (1*R*)-(1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-pinandiol-1-amoniotrifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato



Compuesto 2 (1*S*)-(1*S*,2*S*,3*R*,5*S*)-pinandiol-1-amoniotrifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato



Estabilidad de la solución

- Se preparó una solución madre del compuesto 1 por medio del pesaje de 150,13 mg del compuesto 1 en un matraz volumétrico de 10 mL y llevándolo a volumen con el Disolvente A. Se probó la estabilidad de esta

5 solución a temperatura ambiente durante 48 horas. La solución madre se llenó en 6 viales de GC separados. Las inyecciones en el sistema de GC se llevaron a cabo a partir de estos viales después de 0, 12, 24, 48 y 72 horas (doble inyección de cada vial). Se determinó el porcentaje de área del compuesto 1 y del compuesto 2. No se observaron cambios en el % de área, lo que indica que la solución es estable durante 72 horas a temperatura ambiente.

Especificidad

10 Se disolvieron aproximadamente 150 mg de una muestra que comprendía el compuesto 1 y el compuesto 2 en el Disolvente A y se inyectaron en el sistema cromatográfico GC. El pico del compuesto 1 estaba bien separado del pico del compuesto 2. La comprobación de la pureza de los picos por medio de GC-MS no mostró otros componentes que coeluyeran con el compuesto 1 o el compuesto 2.

Límite de Detección

15 El límite de detección (LOD) se definió como aquella concentración donde la señal del compuesto 1 mostraba una relación señal/ruido de al menos 3:1. Se llevó a cabo una medición previa en blanco para demostrar que no había otros picos que interfirieran. La relación señal/ruido se calculó por medio de la ecuación

$$20 \quad S/N = \frac{H(\text{señal})}{H(\text{línea de base})}$$

S/N = relación señal/ruido

25 H(señal) = altura de la señal para el compuesto 1 [mm]

H(línea de base) = altura de la línea de base de la señal [mm]

30 Se inyectó una concentración de muestra del 0,05% de la concentración de la muestra de ensayo estándar y mostró una relación señal/ruido de 4,3. Por lo tanto, el límite de detección es de 0,0075 mg/mL.

Límite de Cuantificación

35 El límite de cuantificación (LOQ) se definió como aquella concentración donde la señal del compuesto 1 mostraba una relación señal/ruido de al menos 10:1. La relación señal/ruido se calculó como se ha descrito anteriormente. Se inyectó una concentración de muestra del 0,1% de la concentración de la muestra estándar y mostró una relación señal/ruido de 10,1. Por lo tanto, el límite de cuantificación es de 0,015 mg/mL.

Ejemplo 5: Ensayo de Pureza del anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina

40 La pureza del anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina (compuesto 3) se ensayó por medio de HPLC de fase inversa.

Reactivos: Agua, grado HPLC
Acetonitrilo, grado HPLC
Ácido fórmico, grado ACS, ≥ 98% de pureza
Peróxido de hidrógeno al 3%, grado ACS o equivalente

Instrumento

Cromatógrafo Automuestreador capaz de suministrar inyecciones de 20 µL y mantener una temperatura líquida de alto rendimiento de 5 °C

Bomba capaz de suministrar gradientes a 1,0 mL/min

Detector UV capaz de controlar el efluente a 270 nm

Columna Columna cromatográfica Symmetry C18, 250 mm × 4,6 mm ID, 5-µm, Waters, N.º de cat. WAT054275.

Preparación de la Muestra: Se pesaron con precisión unos 50 mg del compuesto 3 en un matraz aforado de 50 mL. Se añadió la Fase Móvil B (5 mL) y se sonicó la mezcla para disolver el compuesto 3 (aproximadamente de 30 a 60 segundos). Se dejó que la solución alcanzara la temperatura ambiente, se diluyó hasta el volumen con la Fase Móvil A y se mezcló bien. Cada muestra se preparó por duplicado y fue estable durante 7 días cuando se almacenó a 2 a 8 °C protegida de la luz.

Parámetros HPLC:

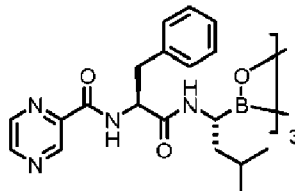
ES 2 974 758 T3

<i>Fase móvil A:</i>	acetonitrilo/agua/ácido fórmico, 30:70:0.1 (v/v/v), desgasificado
<i>Fase móvil B:</i>	acetonitrilo/agua/ácido fórmico, 80:20:0.1 (v/v/v), desgasificado
<i>Caudal:</i>	1,0 mL/min
<i>Detector:</i>	UV a 270 nm
<i>Volumen de Inyección:</i>	20 µL
<i>Temp. de la columna:</i>	ambiente
<i>Temp. de la Bandeja de Muestra:</i>	5 °C
<i>Programa de Gradiente:</i>	

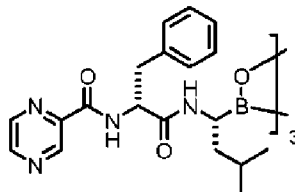
<u>Tiempo</u>	<u>% de A</u>	<u>% de B</u>
0	100	0
15	100	0
30	0	100
45	0	100
47	100	0
55	100	0

Sustancias

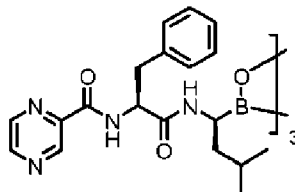
Compuesto 3 Anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-L-leucina



Compuesto 4 Anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-D-fenilalanina-L-leucina



Compuesto 5 Anhídrido borónico de N-(2-pirazincarbonilo)-L-fenilalanina-D-leucina



El tiempo de retención del compuesto 3 fue típicamente entre 10 y 14 minutos cuando se utilizó un sistema HPLC con un volumen de permanencia de 1,3 minutos. Los compuestos 4 y 5 coeluyeron a un tiempo de retención más largo, con una resolución de $\geq 2,0$.

- 5 La retención relativa del compuesto 3 en un cromatograma de muestra con respecto al cromatograma estándar se calculó según la siguiente ecuación:

$$R_r = \frac{t_{sam}}{t_{std}}$$

- 10 Donde:

R_r = retención relativa

t_{sam} = tiempo de retención del pico del compuesto 3 en el cromatograma de la muestra, en minutos

- 15

t_{std} = tiempo de retención del pico del principio activo en el cromatograma estándar precedente más cercano, en minutos

Los resultados del ensayo se calcularon para cada muestra según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de ensayo} = \frac{A_{sam}}{A_{std}} \times \frac{W_{std} \times P}{W_{sam}} \times \frac{1}{\left(\frac{100-M}{100}\right)} \times 100$$

5 Donde:

A_{sam} = respuesta del área del pico del compuesto 3 en la preparación de la muestra

10 A_{std} = respuesta media del área del pico del compuesto 3 en la preparación del estándar de trabajo

W_{std} = peso del patrón, en mg

P = pureza asignada de la norma (formato decimal)

15 W_{sam} = peso de la muestra, en mg

M = contenido de humedad de la muestra, %

100 = conversión a porcentaje

20

La retención relativa y los niveles de impurezas en cada muestra se calcularon según las siguientes ecuaciones:

$$R_r = \frac{t_i}{t_{ds}}$$

25

Donde:

R_r = retención relativa

30 t_i = tiempo de retención de la impureza individual

t_{ds} = tiempo de retención del pico del compuesto 3

$$\% I_i = \frac{A_i \times W_{std} \times P \times DF \times RF_i}{A_{std,1\%} \times W_{sam}} \times 100$$

35

Donde:

I_i = impureza individual

40 A_i = respuesta del área del pico de una impureza individual en la preparación de la muestra

$A_{std,1\%}$ = respuesta media del área del pico del compuesto 3 en la preparación estándar al 1%

45 W_{std} = peso del patrón, en mg

W_{sam} = peso de la muestra, en mg

P = pureza asignada del estándar (formato decimal)

50 DF = factor de dilución, 1/100

RF_i = factor de respuesta relativo de la impureza individual

100 = conversión a factor porcentual

55

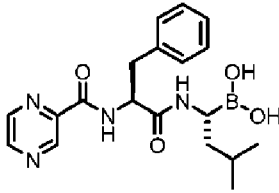
Cuando se ensayó por este procedimiento, el anhídrido *N*-(2-pirazincarbonilo)-*L*-fenilalanin-*L*-leucinborónico del Ejemplo 2 mostró impurezas totales de menos del 1 %.

60 Aunque la invención anterior se ha descrito con cierto detalle a efectos de claridad y comprensión, estas realizaciones particulares se deben considerar ilustrativas y no restrictivas. Los expertos en la técnica apreciarán, a partir de la lectura de la presente divulgación, que se pueden llevar a cabo diversos cambios de

forma y detalle sin apartarse del verdadero alcance de la invención y de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para formar compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo:



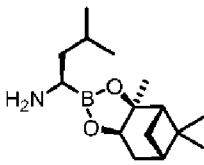
5

(XIV)

que comprende las etapas:

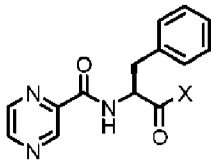
(A) acoplar una sal de adición de ácido trifluoroacético de un compuesto de la fórmula (XVIII):

10



(XVIII)

con un compuesto de la fórmula (XIXa):

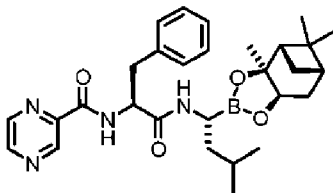


15

(XIXa)

en donde la fracción -C(O)X es un éster O-(N-hidroxisuccinimida) generado *in situ* por medio del contacto de N-(2-pirazinocarbonil)-L-fenilalanina con dicitclohexilcarbodiimida y N-hidroxisuccinimida, para formar un compuesto de la fórmula (XXIII):

20



(XXIII); y

(B) desproteger la fracción de ácido borónico para formar un compuesto de la fórmula (XIV) o un anhídrido de ácido borónico del mismo.

25

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en donde la etapa de acoplamiento (A) comprende:

(i) proporcionar una solución de (1*R*)-(5*S*)-pinandiol-1-trifluoroacetato de amonio-3-metilbutano-1-boronato y N-hidroxisuccinimida, seguida por la adición de dicitclohexilcarbodiimida para formar una suspensión;

30

(ii) proporcionar una solución de N-(2-pirazinocarbonil)-L-fenilalanina y añadirle N-metilmorfolina;

(iii) añadir la solución resultante de la etapa (ii) a la suspensión resultante de la etapa (i) y, opcionalmente, ajustar la suspensión resultante a pH 7 por medio de la adición de N-metilmorfolina; y

35

3. El procedimiento de cualquier reivindicación anterior, en donde la etapa de desprotección (B) del ácido borónico se lleva a cabo en presencia de un aceptor de ácido borónico orgánico (opcionalmente ácido 2-metilpropanoborónico), un alcano inferior (opcionalmente metanol), un disolvente de hidrocarburo C₅₋₈ (opcionalmente hexano) y un ácido mineral acuoso (opcionalmente HCl).

40

4. El procedimiento de cualquier reivindicación anterior, en donde la etapa de desprotección (B) del ácido borónico comprende las etapas:

- (i) proporcionar una mezcla bifásica que comprende el compuesto de la fórmula (XXIII), un aceptor de ácido borónico orgánico, un alcano inferior, un disolvente de hidrocarburo C₅₋₈ y un ácido mineral acuoso;
- 5 (ii) agitar la mezcla bifásica para obtener el compuesto de la fórmula (XIV) a una temperatura de 15 a 25 °C;
- (iii) separar las capas de disolvente; y
- (iv) extraer el compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido del ácido borónico del mismo, en un disolvente orgánico.
- 10 5. El procedimiento de la reivindicación 4, en donde la etapa (B)(iii) comprende las etapas:
- (1) separar las capas de disolvente;
- 15 (2) ajustar la capa acuosa a un pH básico;
- (3) lavar la capa acuosa con un disolvente orgánico; y
- (4) ajustar la capa acuosa a un pH inferior a 8.
- 20 6. El procedimiento de la reivindicación 5, en donde en la etapa (B)(iii)(4), la capa acuosa se ajusta a un pH inferior a 6.
- 25 7. El procedimiento de la reivindicación 4, en donde en la etapa (B)(iv), compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se extrae en acetato de etilo, y compuesto de la fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se cristaliza por medio de la adición de éter *terc-butílico*.