



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 221 974**

⑮ Int. Cl.:

C12P 41/00 (2006.01)

C12P 13/04 (2006.01)

C07C 231/06 (2006.01)

C07C 253/00 (2006.01)

C07C 255/24 (2006.01)

C07C 237/04 (2006.01)

C07C 229/22 (2006.01)

C07D 317/28 (2006.01)

C07D 317/30 (2006.01)

C07D 319/06 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA MODIFICADA

T5

⑯ Número de solicitud europea: **98202972 .0**

⑯ Fecha de presentación : **04.09.1998**

⑯ Número de publicación de la solicitud: **0905257**

⑯ Fecha de publicación de la solicitud: **31.03.1999**

⑭ Título: **Proceso para preparar derivados de ácidos 2-amino- ω -oxoalcanoicos ópticamente activos.**

⑩ Prioridad: **25.09.1997 NL 1007113**

⑬ Titular/es: **DSM IP Assets B.V.**
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL

⑮ Fecha de publicación de la mención y de la traducción de patente europea: **16.01.2005**

⑭ Inventor/es:
Boesten, Wilhelmus Hubertus Joseph;
Broxterman, Quirinus Bernardus y
Plaum, Marcus Joseph Maria

⑮ Fecha de la publicación de la mención de la patente europea modificada BOPI: **16.10.2007**

⑮ Fecha de publicación de la traducción de patente europea modificada: **16.10.2007**

⑬ Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

DESCRIPCIÓN

Proceso para preparar derivados de ácidos 2-amino- ω -oxoalcanoicos ópticamente activos.

5 La invención se refiere a un proceso para preparar un derivado ópticamente activo de ácido 2-amino- ω -oxoalcanoico de fórmula 1,



20 en la cual n es igual a 0, 1, 2, 3 ó 4 y R₁ y R₂ representan cada uno independientemente un grupo alquilo con 1-10
25 átomos C o forman un anillo con 3 ó 4 átomos C junto con los átomos O a los que están unidos y el átomo C al que
están unidos los átomos O.

La preparación de una mezcla racémica de un derivado de ácido 2-amino- ω -oxoalcanoico de fórmula 1 se describe en Biorg. & Med. Chem. (1995), 1237-1240. El método de preparación descrito en dicho lugar procede sin embargo por la vía de un proceso de 8 pasos, que parte de 3,4-dihidro-2H-pirano, con diversos pasos de protección y desprotección, y es por tanto muy laborioso.

30 La invención proporciona un concepto nuevo y sencillo para preparar derivados de ácidos 2-amino- ω -oxoalcanoicos.

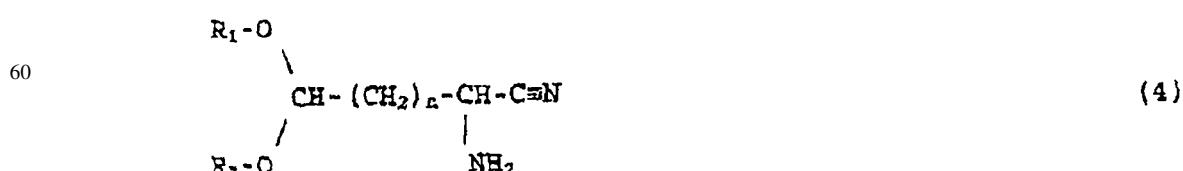
35 Esto se consigue de acuerdo con la invención por un proceso en el cual el aldehído correspondiente de fórmula 2



40 en el que n es como se ha descrito arriba, se convierte en el aldehído correspondiente protegido con acetal de
fórmula 3



55 donde n, R₁ y R₂ son como se ha descrito arriba, y el aldehído protegido con acetal se convierte en el aminonitrilo
correspondiente de fórmula 4



en el cual n, R₁ y R₂ son como se ha descrito arriba; el aminonitrilo se convierte en la amida de aminoácido correspondiente de fórmula 5



15 donde n, R_1 y R_2 son como se ha descrito arriba, y la amida de aminoácido se somete a una hidrólisis enzimática enantioselectiva en la cual el enantiómero R de la amida de aminoácido se mantiene, y el enantiómero S se convierte en el S-aminoácido, y se aísla el S-aminoácido.

20 Se ha encontrado que, a pesar del hecho de que la selectividad en el primer paso del proceso es relativamente baja, puede obtenerse sin embargo un proceso económicamente atractivo.

25 Los compuestos ópticamente activos de fórmula 1 son nuevos y son particularmente adecuados para uso en la preparación de, por ejemplo, alisina, un reticulador importante en proteínas, como se describe en Int. J. Pept. Protein Res. (1988), 307-20, y en la preparación de productos farmacéuticos, por ejemplo como se describe en el documento EP-A-629627.

30 Los documentos EP-A-0383403 y EP-A-0307023 se refieren ambos a la preparación estereoselectiva de aminoácidos. Los aminoácidos se preparan a partir de las amidas de aminoácidos respectivas, que se convierten en aminoácidos por la acción de una amidasa. El otro enantiómero puede, o bien convertirse en su forma de aminoácido por medio de una base de Schiff con benzaldehído, o se convierte en su otro enantiómero por medio de una racemasa.

El documento EP-A-0052201 describe la preparación de una mezcla racémica de ácido 1,3-dioxo(ol)an-2-il-propiónico a partir de 1,3-dioxo(ol)an-2-il-propenal, utilizando HCN, NH₃ y CO₂, seguido por hidrólisis con OH⁻.

35 El documento JP-48 039416 A describe la preparación de 1,3-dioxolan-2-il-butanal a partir de aldehído glutárico y glicol.

40 El documento GB-A-1124149 describe la preparación de aminoácidos a partir de aldehídos por la reacción de HCN y NH₄, seguida por hidrólisis del α -aminonitrilo así obtenido. El documento JP-A-57158743 describe la preparación de amidas de α -aminoácidos por puesta en contacto de α -amino-nitrilo con NaOH y acetona.

En el proceso de acuerdo con la invención, una de las dos funciones aldehído en el aldehído de fórmula 2 se protege primeramente por conversión, de una manera conocida *per se*, en un acetal. Esto puede hacerse, por ejemplo, con la ayuda de un alcohol, por ejemplo un alcohol con 1-5 átomos C donde R₁ y R₂ representan un grupo alquilo, o con la ayuda de un diol, en particular un 1,2-etanodiol o un 1,3-propanodiol, esté sustituido o no con, por ejemplo, un grupo alquilo con 1-5 átomos C, por ejemplo 1,2-etanodiol, 1,2-propanodiol, 1,3-propanodiol o 2,3-butanodiol, donde R₁ y R₂ forman parte de una estructura de anillo; o por la vía de re-acetalización, por ejemplo con ayuda de ésteres orto-formiato.

50 La acetalización puede llevarse a cabo por ejemplo poniendo en contacto el aldehído de fórmula 2 con un alcohol o un diol en condiciones ácidas, por ejemplo en presencia de un ácido sulfónico, en particular ácido p-toluenosulfónico. La acetalización se realiza opcionalmente en presencia de un disolvente. En principio, puede utilizarse como disolvente cualquier disolvente que no interfiera con la reacción, por ejemplo hidrocarburos aromáticos, en particular benceno, tolueno y xileno; hidrocarburos halogenados, por ejemplo diclorometano; ésteres, preferiblemente ésteres impedidos, en particular acetato de isopropilo o acetato de isobutilo y éteres, en particular metil-t-butil-éter (MTBE). La acetalización con un alcohol o diol se lleva a cabo preferiblemente a temperatura elevada, por ejemplo a una temperatura comprendida entre 50 y 150°C, preferiblemente a la temperatura de reflujo.

60 El aldehido protegido por acetal obtenido se convierte subsiguentemente en el aminonitrilo correspondiente, por ejemplo por la vía química de Strecker conocida *per se*. A este fin, el aldehido protegido con acetal puede convertirse por ejemplo en el aminonitrilo en presencia de amoniaco con ayuda de un compuesto de cianuro, por ejemplo HCN, NaCN o KCN.

65 El aminonitrilo se convierte subsiguientemente en la amina de aminoácido racémica correspondiente, por ejemplo, como se describe en el documento GB-A-1548032, por conversión del aminonitrilo a un pH comprendido entre 11 y 14, con preferencia entre 12.5 y 13.5, en presencia de una base y una cetona o aldehído, seguido opcionalmente por hidrólisis de la base de Schiff formada como compuesto intermedio en presencia de agua. Preferiblemente, se utilizan

como la base KOH o NaOH o una base correspondiente y una cetona alifática, por ejemplo acetona, metil-etil-cetona o ciclohexanona, o un aldehído aromático, por ejemplo benzaldehído, como la cetona o el aldehído.

Después de la conversión del aminonitrilo en la amida de aminoácido, la mezcla de reacción se somete en primer lugar preferiblemente a tratamiento con un aldehído, por ejemplo un benzaldehído, con lo cual se obtiene la base de Schiff de la amida de aminoácido y cualquier aminoácido racémico formado queda en solución. Un tratamiento de este tipo presenta la ventaja de que el (S)-aminoácido deseado puede obtenerse con un exceso enantiomérico mayor.

Preferiblemente, se utiliza un benzaldehído en la formación de la base de Schiff de la amida de aminoácido.

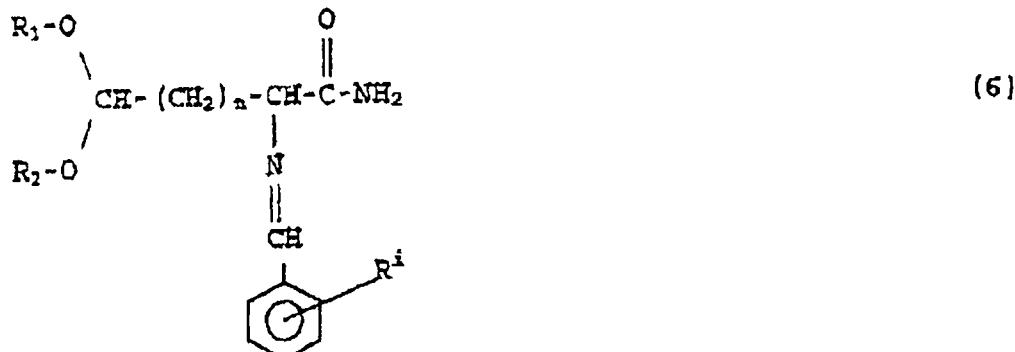
Una ventaja del benzaldehído es que es fácil separar la base de Schiff y recuperar el benzaldehído. Otra ventaja del benzaldehído es que el mismo no es miscible con el agua, como resultado de lo cual es también más preferible que otros medios de extracción para utilización como medio de extracción debido a que la base de Schiff formada de la amida de aminoácido ópticamente activa se disuelve en el benzaldehído y los otros componentes de la mezcla de reacción en la fase acuosa. Sorprendentemente, se ha encontrado que la hidrólisis de la base de Schiff de la amida de aminoácido que da como resultado la sal de amida de aminoácido puede llevarse a cabo sin que la función acetal se deteriore significativamente.

Sebe entenderse también que "benzaldehído" incluye benzaldehídos sustituidos, tales como alquil(1-4C)-benzaldehídos, halogenobenzaldehídos, nitrobenzaldehídos y alcoxi(1-4C)-benzaldehídos inferiores.

La reacción con benzaldehído que da como resultado la formación de la base de Schiff puede realizarse por ejemplo a una temperatura comprendida entre 20 y 60°C, con preferencia entre 35 y 45°C. Si se utilizan cantidades equimolares de benzaldehído, por ejemplo 0,9-2, en particular 0,95-1,1 equivalentes con relación a la amida aminoácido en la formación de la base de Schiff sin un disolvente diferente para la base de Schiff de la amida, se obtiene un precipitado de la base de Schiff de la amida de aminoácido. Los otros componentes se mantienen disueltos en las aguas madres. Si se utiliza en exceso de benzaldehído, el benzaldehído actúa no sólo como medio de reacción, sino también como disolvente, y se obtienen dos capas. Es también posible utilizar mezclas de benzaldehído y otros disolventes, por ejemplo mezclas con hidrocarburos aromáticos, por ejemplo tolueno; cetonas, por ejemplo metil-isobutil-cetona; hidrocarburos halogenados, por ejemplo cloroformo o diclorometano; ésteres, por ejemplo acetato de etilo y acetato de butilo. La fase orgánica puede utilizarse subsiguentemente como tal en la hidrólisis de la base de Schiff de la amida de aminoácido a la amida de aminoácido, o la misma puede someterse a concentración, después de lo cual la base de Schiff de la amida de aminoácido precipita como un sólido.

La amida de aminoácido puede recuperarse de la base de Schiff correspondiente de una manera sencilla, por acidificación con un ácido fuerte, por ejemplo ácido sulfúrico, hasta que se ha obtenido un pH comprendido entre 3 y 5, preferiblemente entre 3,5 y 4,5, descomponiéndose la base de Schiff para formar el aldehído y la sal correspondiente de la amida de aminoácido.

La amida de aminoácido libre puede obtenerse subsiguentemente a partir de la sal por tratamiento con una base, por ejemplo con trietilamina. Preferiblemente, la conversión de la sal en la amida de aminoácido libre se lleva a cabo con ayuda de un cambiador de iones (fuertemente) básico, por ejemplo Amberlyst 26™ o IRA 900™. Las amidas de aminoácidos de fórmula 5 y las bases de Schiff de las mismas de fórmula 6

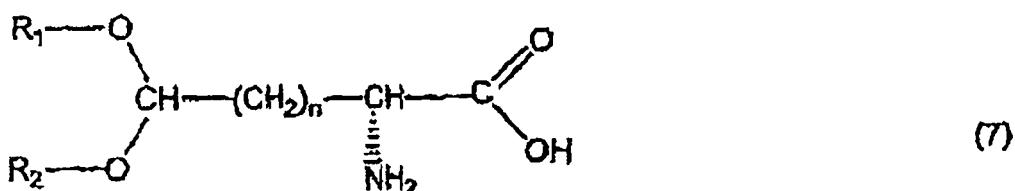


que se obtienen como compuestos intermedios son compuestos nuevos *per se*. La invención se refiere también por tanto a estos productos intermedios, tanto en forma racémica como en forma ópticamente activa, en particular a las amidas de aminoácidos que tienen un e.e. mayor que 80%, preferiblemente mayor que 90%, más preferiblemente mayor que 95%, muy preferiblemente mayor que 98%, y en particular, mayor que 99%.

La amida de aminoácido se somete subsiguentemente a una hidrólisis enzimática enantioselectiva en la cual el enantiómero S se convierte selectivamente en el ácido correspondiente y el enantiómero R no se ve afectado. El

derivado de ácido (S)-2-amino- ω -oxoalcanoico puede obtenerse luego con un e.e. mayor que 90%, en particular mayor que 95%, preferiblemente mayor que 98%, y en particular mayor que 99%. La hidrólisis enzimática enantioselectiva se realiza preferiblemente en un ambiente acuoso. Sin embargo, es también posible utilizar un disolvente orgánico. La temperatura no es particularmente crítica y se mantiene, por ejemplo, entre 0 y 60°C, preferiblemente entre 20 y 50°C. El pH al que se lleva a cabo la hidrólisis enzimática está comprendido preferiblemente entre 5 y 10,5, en particular entre 8,0 y 9,5. Una amidasa, por ejemplo una amidasa derivada de los géneros *Aspergillus*, *Mycobacterium*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Pseudo-monas* u *Ochrobactrum*, es adecuada para uso como la enzima. Preferiblemente, se utiliza una amidasa derivada de *Pseudomonas putida* o de *Ochrobactrum anthropi*.

Después de, por ejemplo, la eliminación del enantiómero (R) de la amida de aminoácido como la base de Schiff, o concentración y tratamiento con alcohol, por ejemplo isopropanol, puede obtenerse el derivado de ácido (S)-2-amino- ω -oxoalcanoico ópticamente activo. La base de Schiff del enantiómero (R) de la amida de aminoácido puede convertirse opcionalmente en la amida de aminoácido libre, la cual puede hidrolizarse opcionalmente a su vez en condiciones suaves, por ejemplo por la vía de una hidrólisis enzimática (no estereoselectiva) como se describe en el documento EP-A-179523, utilizando *Rhodococcus erythropolis* o un extracto del mismo, para obtener el derivado de ácido (R)-2-amino- ω -oxoalcanoico. Los derivados de ácido (R)-2-amino- ω -oxoalcanoico ópticamente activos son compuestos nuevos con diversas aplicaciones muy interesantes. Los compuestos de fórmula 7



30 son, por ejemplo, muy adecuados para uso en la preparación de derivados de ácido D-pipecólico, como se describe por ejemplo en J.O.C. (1990), 5551-3, y en Bioorg. & Med. Chem. (1995), 1237-1240, que son utilizados a su vez, *per se*, en la preparación de diversos productos farmacéuticos, como se describe por ejemplo en los documentos EP-A-672665, DE-A-3702943 y US-A-5.409.246. Otro uso interesante de los compuestos de fórmula 7 es el uso como compuesto intermedio en la preparación de D-prolina, que se utiliza por ejemplo en la preparación de Elitriptán, como se describe en "Drugs of the Future" (1997), 221-223, que se incorpora en esta memoria por referencia. La invención 35 se refiere también a estos nuevos compuestos, en particular a los derivados de ácido (R)-2-amino- ω -oxoalcanoico ópticamente activos que tienen un e.e. mayor que 80%, preferiblemente mayor que 90%, en particular mayor que 95%.

40 La invención se esclarecerá a continuación con referencia a los ejemplos, sin estar limitada por los mismos.

Ejemplo I

Preparación de 4-(1,3-dioxolano-2-il)-1-butanal por acetalización de dialdehído glutámico con etilen-glicol

45 Se dosificaron sucesivamente tolueno (1 litro), etilen-glicol (155 gramos, 2,5 mol) y ácido p-toluenosulfónico (1 gramo) en una solución al 50% de dialdehído glutárico en agua (500 gramos, 2,5 mol). La mezcla se calentó a la temperatura de reflujo. Se separó azeotrópicamente el agua con ayuda de un aparato Dean-Stark. Tan pronto como se hubo eliminado toda el agua con ayuda del aparato Dean-Stark (aprox. 6 horas) se enfrió la solución a la temperatura ambiente.

50 Se añadieron a la solución bicarbonato de sodio (2,1 gramos) y agua (250 ml). Después de media hora de agitación energética, se separaron las capas. Este lavado de la fase de tolueno se repitió dos veces. A continuación se evaporó la fase de tolueno en un evaporador de película rotativa para obtener un aceite amarillo pálido. El contenido de 4-(1,3-dioxolano-2-il)-1-butanal era 50% (G.C.). Rendimiento = 35%.

Ejemplo II

Preparación de la base de Schiff de la amida del ácido 2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico por la reacción de Strecker de 4-(1,3-dioxolan-2-il)-1-butanal

60 Se añadieron sucesivamente cianuro de sodio (49 gramos, 1 mol) y acetato de amonio (77 gramos, 1 mol) a una solución al 25% de amoniaco en agua (500 ml). En el transcurso de 1 hora, el aceite obtenido en el Ejemplo I (288 gramos, 1 mol) se añadió gota a gota a esta solución. Después de agitación adicional durante 5 horas, se dosificaron a esta solución acetona (100 ml) y una solución al 45% de hidróxido de potasio en agua (10 ml). Después de 3 horas 65 se añadió ácido acético glacial (7 ml). La solución se concentró a aprox. 400 gramos con ayuda de un evaporador de película rotativa. Se añadieron al concentrado agua (600 ml) y tolueno (150 ml). Después de media hora de agitación, se separaron las capas. Se añadió lentamente de manera dosificada benzaldehído (74 gramos) a la fase acuosa, con

ES 2 221 974 T5

agitación enérgica. El precipitado blanco formado se separó por filtración y se lavó con agua. Después de secar, el rendimiento de la base de Schiff de la amida del ácido 2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico era 195 gramos (rendimiento, 70%). Pureza > 98% (¹H-NMR).

5 Ejemplo III

Preparación de ácido (S)-2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico por la resolución enzimática de la amida del ácido 2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico

10 La base de Schiff de la amida del ácido 2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico (240 gramos, 0,87 mol) se suspendió en tolueno (1000 ml) y agua (1500 ml). Se dosificó muy lentamente ácido sulfúrico concentrado (44,5 gramos, 0,44 mol), con agitación enérgica, a fin de que el pH se mantuviera por encima de 4,0. Después de la dosificación del ácido sulfúrico, se separaron las capas. La fase acuosa se pasó subsiguientemente sobre un intercambiador de iones 15 fuertemente básico (tipo IRA 900). La fase acuosa exenta de sulfato se llevó subsiguientemente a un pH de 9,0 con ácido acético. Se añadió a esta solución *Pseudomonas putida* (40 gramos). Después de 8 horas de agitación a 37°C se añadieron sucesivamente de forma dosificada a la suspensión decalita (30 gramos) y, gota a gota, benzaldehído (51 gramos, 0,48 mol). El precipitado formado se separó con ayuda de filtración. El filtrado obtenido se concentró a 20 aproximadamente 450 gramos con ayuda de un evaporador de película rotativa. Después de calentar a 65°C se añadió a la solución isopropanol (900 gramos). Después de enfriamiento lento a -5°C, los cristales blancos formados se filtraron y se lavaron sucesivamente con agua que contenía hielo, e isopropanol.

Rendimiento de ácido (S)-2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico: 42 gramos (26%).

Punto de fusión: 258°C.

25 Pureza > 99% (titulación)

E.e. > 99% (HPLC).

30 Ejemplo IV

Preparación de ácido (S)-2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico por la vía de la resolución enzimática de la amida del ácido 2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico

35 Se añadió ácido acético glacial a la fase acuosa obtenida a partir de la extracción con tolueno (véase Ejemplo II) de tal modo que el pH llegó a ser 9,0. A 37°C.

Se añadió a esta fase acuosa *Pseudomonas putida*. Después de 8 horas de agitación, la fase acuosa se trató como se describe en el Ejemplo III.

40 Rendimiento de ácido (S)-2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico = 11%.

Pureza = 95% (HPLC), e.e. > 99% (HPLC).

45 Ejemplo V

Preparación de ácido (S)-2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico por la resolución enzimática de la amida del ácido 2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico

50 La fase acuosa obtenida después de la hidrólisis de la base de Schiff con ácido sulfúrico (véase Ejemplo III) se llevó a un pH de 9,0 con ayuda de trietilamina. A 37°C, se dosificó subsiguientemente *Pseudomonas putida* en esta solución, y después de 8 horas de agitación, se procesó ulteriormente como se describe en el Ejemplo III.

Rendimiento de ácido (S)-2-amino-5-(1,3-dioxolano-2-il)-pentanoico = 24%.

55 Pureza = 76% (HPLC), e.e. > 99% (HPLC).

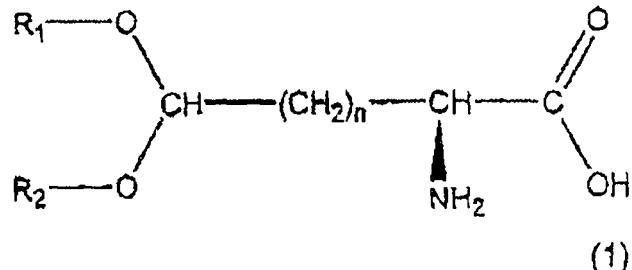
60

65

REIVINDICACIONES

1. Proceso para preparar un derivado de ácido (S)-2-amino- ω -oxoalcanoico de fórmula 1,

5



20 en la cual n es igual a 0, 1, 2, 3 ó 4 y R₁ y R₂ representan cada uno independientemente un grupo alquilo con 1-10
átomos C o forman un anillo con 3 ó 4 átomos C junto con los átomos O a los que están unidos y el átomo C al cual
están unidos los átomos O, **caracterizado** porque el aldehído correspondiente de fórmula 2

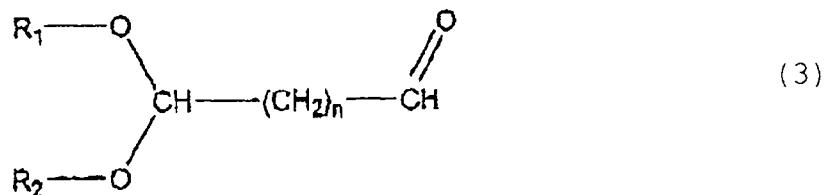
25



30

en el que n es como se ha descrito arriba, se convierte en el aldehído correspondiente protegido con acetal de
fórmula 3

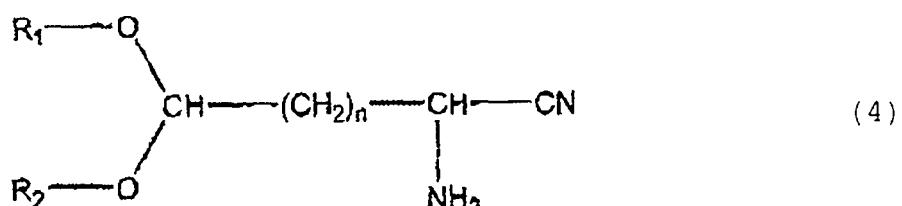
35



40

en el que n, R₁ y R₂ son como se ha descrito arriba, después de lo cual el aldehído protegido con acetal se convierte
en el aminonitrilo correspondiente de fórmula 4

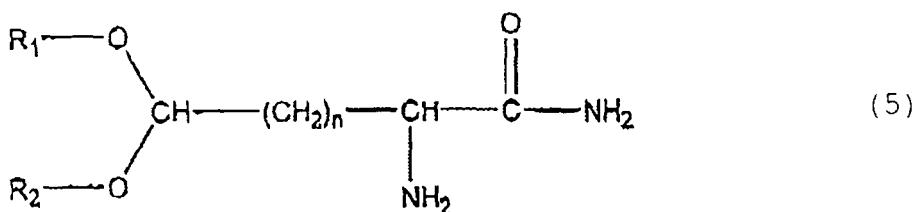
45



50

en el que n, R₁ y R₂ son como se ha descrito arriba, el aminonitrilo se convierte en la amida de aminoácido
correspondiente de fórmula 5

55

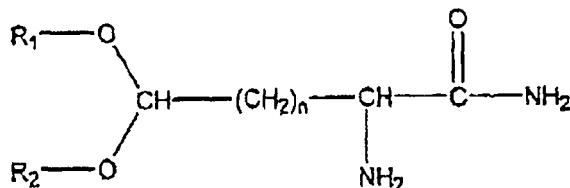


60

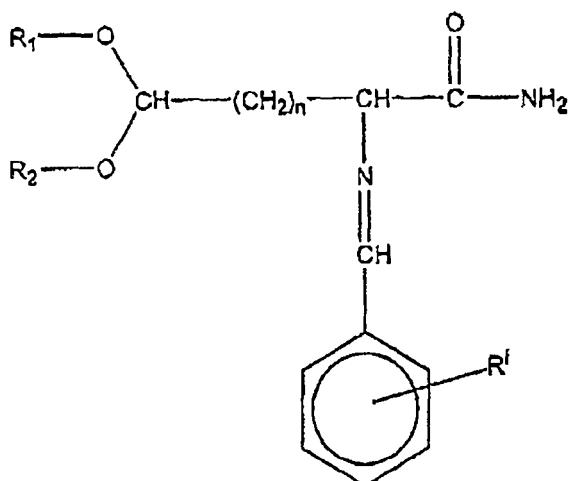
65 en la cual n, R₁ y R₂ son como se ha descrito arriba, sometiéndose la amida de aminoácido a una hidrólisis enan-
tioselectiva enzimática en la cual el enantiómero (R) de la amida de aminoácido se mantiene y el enantiómero S se
convierte en el (S)-aminoácido, y se aísla el (S)-aminoácido.

2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, en el cual la mezcla de reacción obtenida después de la conversión del aminonitrilo en la amida de aminoácido se somete a tratamiento con un benzaldehído, después de lo cual se forma la base de Schiff de la amida de aminoácido, se separa la base de Schiff y se convierte en la amida de aminoácido libre.
- 5 3. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el cual la amida de (R)-aminoácido se hidroliza para formar el (R)-aminoácido, y el (R)-aminoácido se recupera.
- 10 4. Proceso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el cual R₁ y R₂ forman un anillo con 3 ó 4 átomos C junto con los átomos O a los cuales están unidos ambos y el átomo C al cual están unidos los átomos de oxígeno.

5. Amida de 2-aminoácido de fórmula 5



o fórmula 6,



en las cuales n es igual a 0, 1, 2, 3 ó 4 y R₁ y R₂ representan cada uno independientemente un grupo alquilo con 1-10 átomos C o forman un anillo con 3 ó 4 átomos C junto con los átomos O a los cuales están unidos ambos y el átomo C al cual están unidos los átomos O, y R^f representa 1-4 grupos, seleccionados cada uno independientemente del grupo que comprende halógeno, nitró, un grupo alquilo o un grupo alcoxi con 1-4 átomos C.

- 50
6. Compuesto ópticamente activo de acuerdo con la reivindicación 5 con un e.e. > 95%.
7. Compuesto ópticamente activo de acuerdo con la reivindicación 6 con un e.e. > 98%.
- 55 8. Compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-7, en los cuales n es igual a 2 ó 3.
9. Compuestos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5-8, en los cuales R₁ y R₂ forman un anillo con 3 ó 4 átomos C junto con los átomos O a los cuales están unidos ambos y el átomo C al cual están unidos los átomos O.