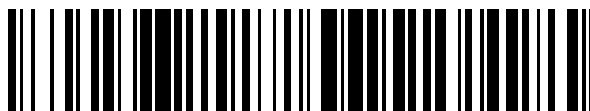


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 405 930**

51 Int. Cl.:

C07K 5/083 (2006.01)

C07K 5/087 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

C07C 229/48 (2006.01)

C12P 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.08.1999 E 08169026 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2013 EP 2028186**

54 Título: **Tripéptidos inhibidores de la hepatitis C**

30 Prioridad:

10.08.1998 US 95931 P

04.05.1999 US 132386 P

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

04.06.2013

73 Titular/es:

BOEHRINGER INGELHEIM (CANADA) LTD.

(100.0%)

2100 CUNARD STREET

LAVAL, QUÉBEC, H7S 2G5, CA

72 Inventor/es:

SIMONEAU, BRUNO;

BAILEY, MURRAY D.;

LLINAS-BRUNET, MONTSE;

CAMERON, DALE;

FAUCHER, ANNE-MARIE;

WERNIC, DOMINIK M.;

GOUDREAU, NATHALIE;

POUPART, MARC-ANDRÉ;

RANCOURT, JEAN;

TSANTRIZOS, YOULA S.;

HALMOS, TEDDY y

GHIRO, ELISE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 405 930 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

Tripéptidos inhibidores de la hepatitis C.

5 El presente invento se refiere a un procedimiento para la resolución de una mezcla enantiomérica de derivados de ácidos 1-aminociclopropil-carboxílicos según se define en las reivindicaciones.

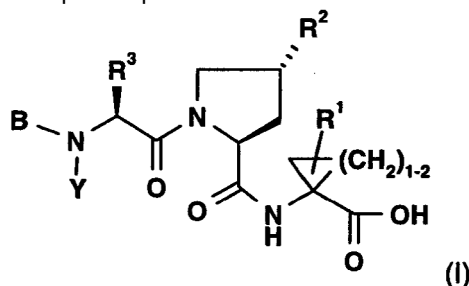
Jimenez et al describen en Tetrahedron Letters 35/32: 5945-5948 (1994) una vía de síntesis estereo-controlada para obtener derivados de ácidos 1-aminociclopropano-1-carboxílicos purso en cuanto a los enantiómeros.

10 Fliche et al describen en Synthetic Communications 24 (20): 2873-2876 (1994) la síntesis de ácidos (1R,2S) y (1S,2S) dehidrocoronámicos utilizando sucesivamente dos esterasas con diferentes regioselectividades y una química convencional.

15 Yee et al describen en J Org. Chem 57: 3525-3527 (1992) un método para resolver enzimáticamente ésteres de ácidos carboxílicos α -sustituidos.

Spero y Kaqpadia describen en J Org. Chem 61: 7398-7401 (1996) una síntesis enantioselectiva de derivados de aminoácidos α,α -sustituidos a través de resolución enzimática.

20 Los siguientes tripéptidos son inhibitorios para la proteasa de NS3 del virus de la hepatitis C.



25 en la que **B** es H, un arilo C_6 o C_{10} , arilalquilo C_{7-16} ; Het o (alquil inferior)-Het, todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} ; alcoxi C_{1-6} ; alcanóilo C_{1-6} ; hidroxilo; hidroxialquilo; halo; haloalquilo; nitro; ciano; cianoalquilo; amino opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-6} ; amido; o (alquil inferior)amida;

o **B** es un derivado de acilo de fórmula $R_4-C(O)-$; un carboxilo de fórmula $R_4-O-C(O)-$; una amida de fórmula $R_4-NH-C(O)-$; una tioamida de fórmula $R_4-N(R_5)-C(S)-$; o un sulfonilo de fórmula R_4-SO_2 , en que

R₄ es (i) alquilo C_{1-10} opcionalmente sustituido con carboxilo, alcanóilo C_{1-6} , hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)-amida;

30 (ii) cicloalquilo C_{3-7} , cicloalcoxi C_{3-7} o alquil-cicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, carboxilo, (alcoxi C_{1-6})-carbonilo, amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} , amido o (alquil inferior)-amida;

(iii) amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; amido; o (alquil inferior)amida;

35 (iv) arilo C_6 o C_{10} o aralquilo C_{7-16} , todos ellos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ; o

(v) Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} , hidroxilo, amido, (alquil inferior)amida o amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C_{1-6} ;

R₅ es H o alquilo C_{1-6} ;

con la condición de que cuando **R₄** es una amida o una tioamida, **R₄** no es (ii) un cicloalcoxi; e

40 **Y** es H o alquilo C_{1-6} ;

R³ es alquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-7} o alquilcicloalquilo C_{4-10} , todos ellos opcionalmente sustituidos con hidroxilo, alcoxi C_{1-6} , tioalquilo C_{1-6} , amido, (alquil inferior)amido, arilo C_6 o C_{10} o aralquilo C_{7-16} ;

R₂ es CH_2-R_{20} , $NH-R_{20}$, $O-R_{20}$ o $S-R_{20}$, en que **R₂₀** es un cicloalquilo C_{3-7} o (alquilcicloalquilo) C_{4-10} saturado o insaturado, todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con **R₂₁**,

45 o **R₂₀** es un arilo C_6 o C_{10} o aralquilo C_{7-14} , todos ellos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con **R₂₁**,

o **R₂₀** es Het o (alquil inferior)-Het, ambos opcionalmente mono-, di- o tri-sustituidos con **R₂₁**.

en que cada **R₂₁** es independientemente alquilo C₁₋₆; alcoxi C₁₋₆; tioalquilo inferior; sulfonilo; NO₂; OH; SH; halo; haloalquilo; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, aralquilo C₇₋₁₄, Het o (alquil inferior)-Het; amido opcionalmente mono-sustituido con alquilo C₁₋₆, arilo C₆ o C₁₀, aralquilo C₇₋₁₄, Het o (alquil inferior)-Het;

carboxilo; carboxi(alquilo inferior); arilo C₆ o C₁₀, aralquilo C₇₋₁₄ o Het, estando dichos arilo, aralquilo o Het opcionalmente sustituidos con **R₂₂**;

en que **R₂₂** es alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇; alcoxi C₁₋₆; amino opcionalmente mono- o di-sustituido con alquilo C₁₋₆; sulfonilo; (alquil inferior)sulfonilo; NO₂; OH; SH; halo; haloalquilo; carboxilo; amida; (alquil inferior)amida; o Het opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₆;

R¹ es H; alquilo C₁₋₆; cicloalquilo C₃₋₇, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, todos ellos opcionalmente sustituidos con halógeno; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables o ésteres.

Definiciones

Como se utilizan en el presente contexto, se aplican las siguientes definiciones, a menos que se señale otra cosa distinta:

La designación "P1, P2 y P3" tal como se utiliza en el presente contexto, se refiere a la posición de los residuos de aminoácidos comenzando desde el extremo terminal de C del péptido y extendiéndose hacia el extremo terminal de N [es decir que P1 se refiere a la posición 1 desde el extremo terminal de C, P2: a la segunda posición desde el extremo terminal de C, etc.] (véase Berger A. & Schechter I., Transactions of the Royal Society London series (1970), B257, 249-264].

Las abreviaturas para los α-aminoácidos utilizados en esta solicitud se exponen en la Tabla A.

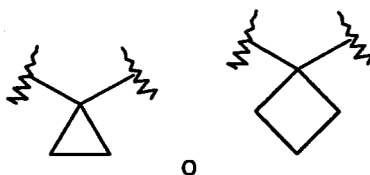
TABLA A

Aminoácido	Símbolo
Ácido 1-aminociclopropil-carboxílico	Acca
Alanina	Ala
Ácido aspártico	Asp
Cisteína	Cys
Ciclohexil-glicina (también denominada: ácido 2-amino-2-ciclohexil-acético)	Chg
Ácido glutámico	Glu
Isoleucina	Ile
Leucina	Leu
Fenilalanina	Phe
Prolina	Pro
Valina	Val
terc.-butil-glicina	Tbg

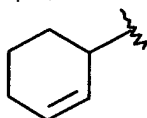
El término "halo", tal como se utiliza en el presente contexto, significa un sustituyente halógeno seleccionado entre bromo, cloro, fluoro o yodo.

El término "alquilo C₁₋₆" o "(alquil inferior)" como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro sustituyente, significa sustituyentes alquilo acíclicos, de cadena lineal o ramificada, que contienen de 1 a seis átomos de carbono e incluye, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, butilo, *terc.*-butilo, hexilo, 1-metil-etilo, 1-metil-propilo, 2-metil-propilo, 1,1-dimetil-etilo.

El término "cicloalquilo C₃₋₇" como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro sustituyente, significa un sustituyente cicloalquilo que contiene de tres a siete átomos de carbono, e incluye ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. Este término incluye también un grupo "espiro"-cíclico tal como espiro-ciclopropilo o espiro-ciclobutilo:



El término "cicloalquilo insaturado" incluye, por ejemplo, ciclohexenilo:



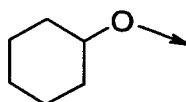
El término "(alquilcicloalquilo) C₄₋₁₀" tal como se utiliza en el presente contexto, significa un radical cicloalquilo que contiene de tres a siete átomos de carbono enlazado a un radical alquilo, conteniendo los radicales enlazados hasta diez átomos de carbono; por ejemplo, ciclopropil-metilo, ciclopentil-etilo, ciclohexil-metilo, ciclohexil-etilo o cicloheptil-etilo.

El término "alquenilo C₂₋₁₀" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un radical alquilo como antes se ha definido, que contiene de 2 a 10 átomos de carbono y que contiene además por lo menos un doble enlace. Por ejemplo, alquenilo incluye aliilo y vinilo.

El término "alcanoilo C₁₋₆" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa radicales 1-oxo-alquilo lineales o ramificados que contienen de uno a seis átomos de carbono, e incluyen formilo, acetilo, 1-oxo-propilo (propionilo), 2-metil-1-oxo-propilo, 1-oxo-hexilo y otros similares.

El término "alcoxi C₁₋₆" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa el radical -O(alquilo C₁₋₆) en el que alquilo es como antes se ha definido, que contiene hasta seis átomos de carbono. Alcoxi incluye metoxi, etoxi, propoxi, 1-metil-etoxi, butoxi y 1,1-dimetil-etoxi. Este último radical es conocido corrientemente como *terc.*-butoxi.

El término "cicloalcoxi C₃₋₇" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un grupo cicloalquilo C₃₋₇ enlazado a un átomo de oxígeno tal como, por ejemplo:

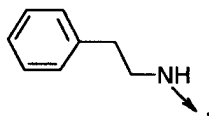


El término "arilo C₆ o C₁₀" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa o bien un grupo monocíclico aromático que contiene 6 átomos de carbono o un grupo bicíclico aromático que contiene 10 átomos de carbono. Por ejemplo, arilo incluye fenilo, 1-naftilo o 2-naftilo.

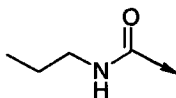
El término "aralquilo C₇₋₁₆" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un arilo C₆ o C₁₀ como antes se define, enlazado a un grupo alquilo, en el que alquilo es como antes se define y contiene de 1 a 6 átomos de carbono. Aralquilo C₇₋₁₆ incluye, por ejemplo, bencilo, butilfenilo y 1-naftilmetilo.

El término "amino-aralquilo" como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical,

significa un grupo amino sustituido con un grupo aralquilo C₇₋₁₆ tal como por ejemplo el amino-aralquilo:

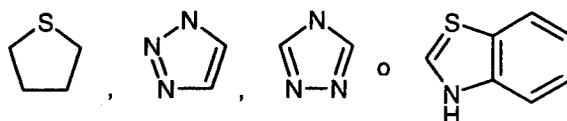


- 5 El término "(alquil inferior)amido" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un amido mono-sustituido con un alquilo C₁₋₆, tal como:

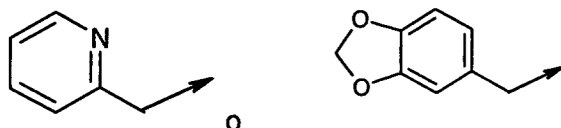


- 10 El término "carboxi-alquilo(inferior)", tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un grupo carboxilo (COOH) enlazado a través de un grupo alquilo(inferior) como antes se define, e incluye por ejemplo ácido butírico.

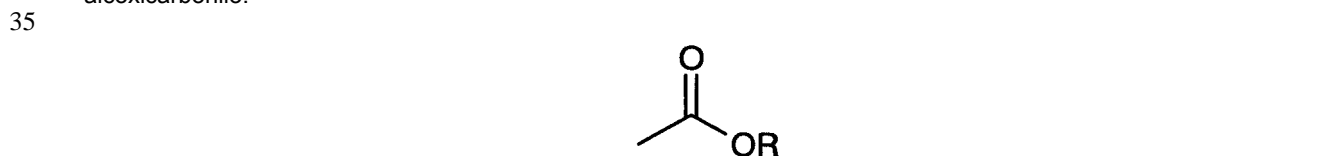
- 15 El término "heterociclo" o "Het", tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro radical, significa un radical monovalente derivado de la eliminación de un hidrógeno a partir de un heterociclo saturado o insaturado (inclusive aromático) de cinco, seis o siete miembros, que contiene de uno a cuatro heteroátomos seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Además, "Het" tal como se utiliza en el presente contexto, significa un heterociclo como antes se ha definido, condensado con uno o más de otros ciclos, ya sean un heterociclo o cualquier otro ciclo. Ejemplos de heterociclos apropiados incluyen: pirrolidina, tetrahidrofurano, tiazolidina, pirrol, tiofeno, diazepina, 1H-imidazol, isoxazol, tiazol, tetrazol, piperidina, 1,4-dioxano, 4-morfolina, piridina, pirimidina, tiazolo[4,5-b]piridina, quinolina o indol, o los siguientes heterociclos:



- 25 El término "(alquil inferior)-Het" tal como se utiliza en el presente contexto, significa un radical heterocíclico como antes se define, enlazado a través de un grupo alquilo de cadena lineal o ramificado, en que alquilo es como antes se ha definido y contiene de 1 a 6 átomos de carbono. Ejemplos de (alquil inferior)-Het incluyen:



- 30 La expresión "éster farmacéuticamente aceptable" tal como se utiliza en el presente contexto, ya sea a solas o en combinación con otro sustituyente, significa ésteres del compuesto de fórmula I en los que cualquiera de las funciones carboxilo de la molécula, pero preferiblemente el extremo terminal de carboxi, ha sido reemplazado por una función alcóxycarbonilo:



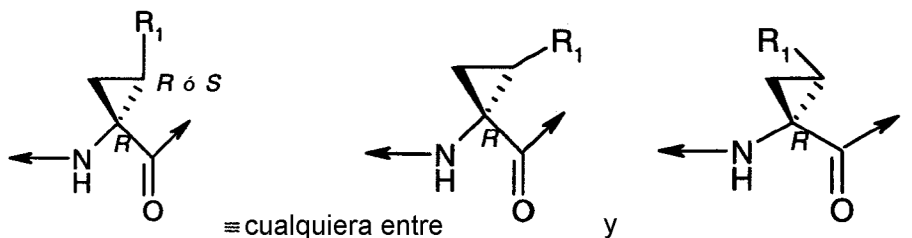
- 40 en la que el resto **R** del éster se selecciona entre alquilo (p.ej. metilo, etilo, *n*-propilo, *t*-butilo, *n*-butilo); alcóxialquilo (p.ej. metoximetilo); alcóxiacilo (p.ej. acetoximetilo); aralquilo (p.ej. bencilo); ariloxialquilo (p.ej. fenoximetilo); arilo (p.ej. fenilo), opcionalmente sustituido con halógeno, alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄. Otros ésteres profármacos apropiados pueden encontrarse en la obra *Design of prodrugs*, Bundgaard, H. coordinador de edición, Elsevier (1985), incorporada en esta memoria como referencia. Dichos ésteres farmacéuticamente aceptables son hidrolizados usualmente *in vivo* cuando se inyectan a un mamífero y son transformados en la forma ácida del compuesto de fórmula I.

- 45 Con respecto a los ésteres antes descritos, a menos que se especifique otra cosa distinta, cualquier resto alquilo presente contiene ventajosamente de 1 a 16 átomos de carbono, particularmente de 1 a 6 átomos de carbono. Cualquier resto arilo presente en tales ésteres constituye ventajosamente un grupo fenilo.

En particular, los ésteres pueden ser un éster de alquilo C₁₋₁₆, un éster de bencilo sin sustituir o un éster de bencilo sustituido con al menos un halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, nitro o trifluorometilo.

5 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en el presente contexto, incluye las derivadas de bases farmacéuticamente aceptables. Ejemplos de bases apropiadas incluyen colina, etanolamina y etilendiamina. Las sales de Na⁺, K⁺ y Ca⁺⁺ son también consideradas como encontrándose dentro del alcance del invento (véase también el artículo de Pharmaceutical salts, Birge, S.M. y colaboradores, J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19).

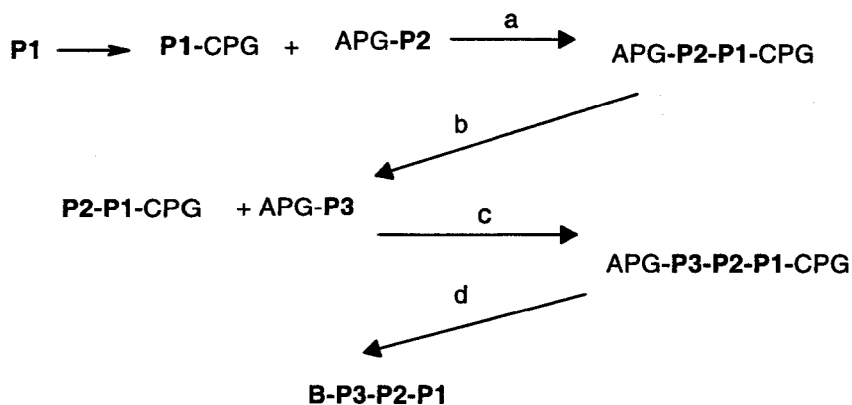
10 P1 es un anillo de ciclopropilo en que el carbono 1 tiene la configuración R,



15 y R¹ es etilo, vinilo, ciclopropilo, 1- ó 2-bromo-etilo o 1- ó 2-bromo-vinilo.

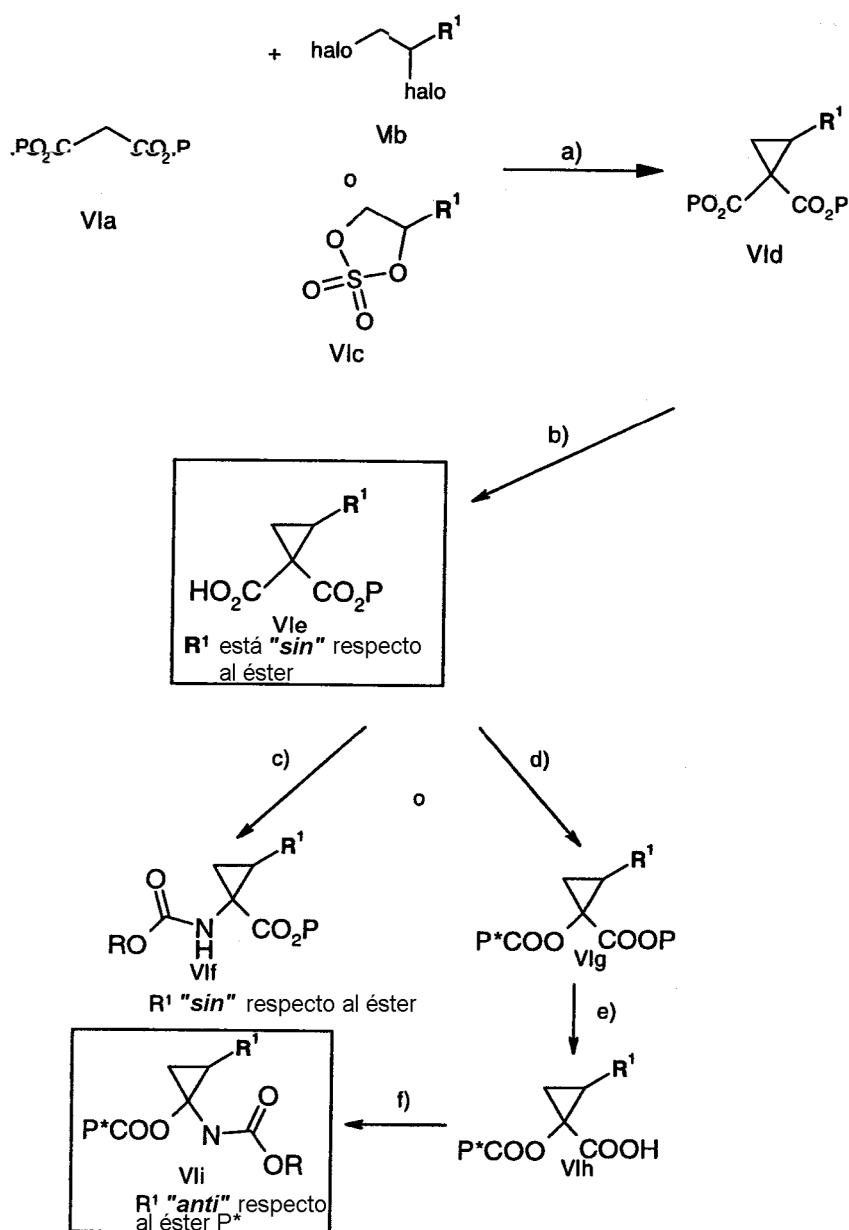
Los compuestos se sintetizan de acuerdo con un procedimiento general como se ilustra en el Esquema I (en el que CPG es un grupo protector de carboxilo y APG es un grupo protector de amino):

ESQUEMA I



Síntesis de los 4 posibles isómeros de derivados de un ácido 1-amino-ciclopropil-carboxílico sustituido en posición 2 se puede realizar de acuerdo con el Esquema VI.

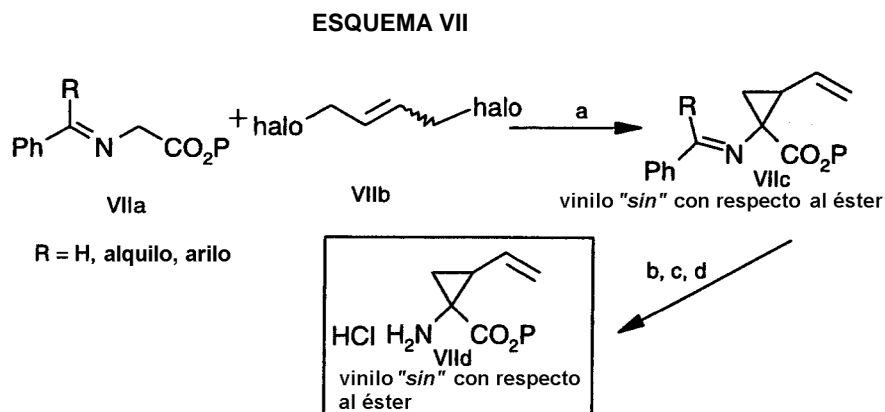
ESQUEMA VI



- 5 a) Dicho brevemente, el malonato di-prottegido **VIa** y el 1,2-dihalo-alcano **VIb** o el sulfato cíclico **VIc** (sintetizado de acuerdo con K. Burgess y Chun-Yen KE (Synthesis, (1996), 1463-1467) se hacen reaccionar en condiciones básicas para dar el diéster **VI d**.
- 10 b) Una hidrólisis regio-selectiva del éster menos impedido estéricamente se realiza para dar el ácido **VI e**.
- c) Este ácido **VI e** es sometido a una transposición de Curtius para dar una mezcla racémica de derivados de ácido 1-amino-ciclopropilcarboxílico **VI f**, estando **R¹** en "sin" con respecto al grupo carboxilo. Una realización específica de esta síntesis se presenta en el Ejemplo 9.
- 15 d, e) Alternativamente, la formación selectiva de los ésteres a partir del ácido **VI e** con un apropiado haluro (**P*Cl**) o alcohol (**P*OH**) forma el diéster **VI g** en que el **P*** éster es compatible con la hidrólisis selectiva del **P** éster. La hidrólisis del **P** éster proporciona el ácido **VI h**.
- f) Una transposición de Curtius en **VI h** da una mezcla racémica de derivados de ácidos 1-amino-ciclopropil-carboxílicos

Vii, estando el grupo R^1 en "anti" con respecto al grupo carboxilo. Una realización específica para esta síntesis se presenta en el Ejemplo 14.

Una síntesis alternativa para la preparación de derivados **Viiif** (cuando R^1 es vinilo y está en "sin" con respecto al grupo carboxilo) se describe seguidamente.



El tratamiento de iminas **Viiia** comercialmente disponibles o fácilmente obtenibles con 1,4-dihalo-buteno **Viiib** en presencia de una base produce, después de hidrólisis de la imina resultante **Viiic**, el compuesto **Viiid** que tiene el sustituyente alilo en "sin" con respecto al grupo carboxilo. Una realización específica de este procedimiento se presenta en los Ejemplos 15 y 19.

La resolución de todas las anteriores mezclas enantioméricas en el carbono 1 (**Viiie** y **Viiid**) se puede llevar a cabo por medio de: separación enzimática (Ejemplos 13, 17 y 20) con esterasa.

Después de resolución, la determinación de la estereoquímica absoluta se puede llevar a cabo tal como se presenta en el Ejemplo 11.

La resolución enantiomérica y la determinación de la estereoquímica se pueden llevar a cabo de la misma manera para las mezclas enantioméricas en el carbono 1 en que el sustituyente en C2 está en "anti" con relación al grupo carboxilo (**Vii**).

EJEMPLOS

Los Ejemplos que no se refieren a los procedimientos definidos en las reivindicaciones son para fines de referencia.

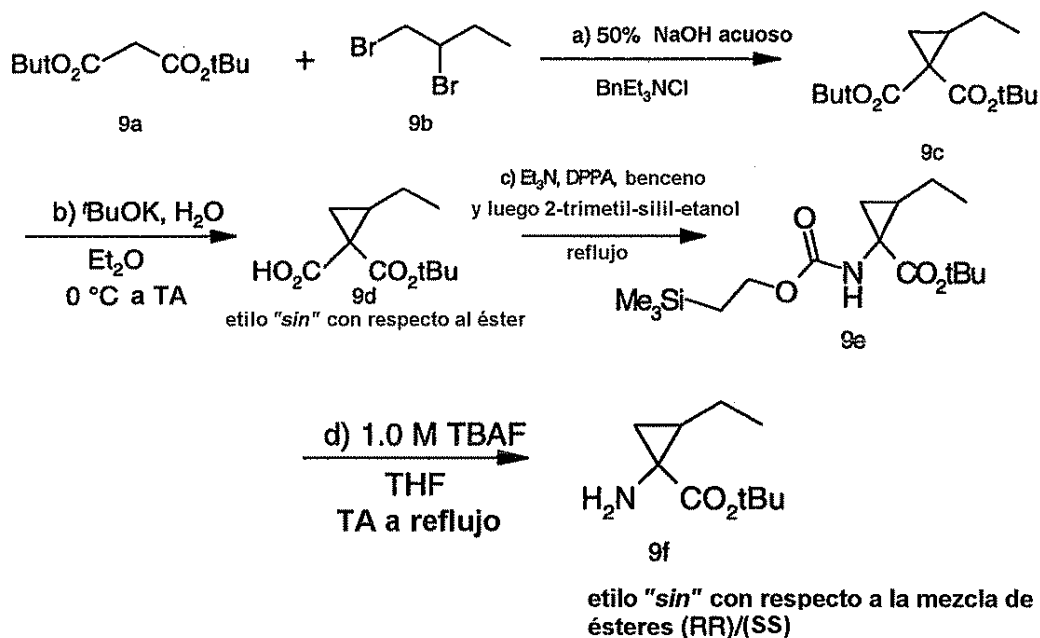
El presente invento es ilustrado con mayor detalle por los siguientes Ejemplos no limitativos.

Las temperaturas están dadas en grados Celsius. Los porcentajes de las soluciones expresan una relación de peso a volumen, y las relaciones de las soluciones expresan una relación de volumen a volumen, a menos que se señale otra cosa distinta. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) se registraron en un espectrómetro Bruker de 400 MHz; los desplazamientos químicos (δ) se dan en partes por millón. La cromatografía con resolución rápida se llevó a cabo sobre gel de sílice (SiO_2) de acuerdo con la técnica de cromatografía con resolución rápida de Still (W.C. Still y colaboradores, J. Org. Chem., (1978), 43, 2923).

Las abreviaturas utilizadas en los ejemplos incluyen Bn: bencilo; Boc: *terc.*-butiloxicarbonilo ($\text{Me}_3\text{COC}(\text{O})$); BSA: albúmina de suero bovino; CHAPS: 3-[(3-colamidopropil)-dimetilamonio]-1-propanosulfonato; DBU: 1,8-diaza-biciclo-[5.4.0]undec-7-eno; CH_2Cl_2 = DCM: cloruro de metileno; DEAD: azo-dicarboxilato de dietilo; DIAD: azo-dicarboxilato de diisopropilo; DIEA: diisopropil-etilamina; DIPEA: diisopropil-etilamina; DMAP: dimetilamino-piridina; DCC: 1,3-diciclohexil-carbodiimida; DME: 1,2-dimetoxi-etano; DMF: dimetil-formamida; DMSO: dimetil-sulfóxido; DTT: ditioneitol o treo-1,4-dimercapto-2,3-butanodiol; DPPA: difenil-fosfonil-azida; EDTA: ácido etilendiamina-tetraacético; Et: etilo; EtOH: etanol; EtOAc: acetato de etilo; Et_2O : dietil-éter; HATU: [hexafluorofosfato de O-7-aza-benzotriazol-1-il]-1,1,3,3-tetrametil-uronio; HPLC: cromatografía de líquido de alto rendimiento; MS: espectrometría de masas (MALDI-TOF: ionización-desorción con láser ayudada por matriz-tiempo de vuelo, FAB: bombardeo con átomos rápidos); LAH: hidruro de litio y aluminio; Me: metilo; MeOH: metanol; MES: (ácido 2-{N-morfolino}etano-sulfónico); NaHMDS: bis(trimetil-silil)amiduro de sodio; NMM: N-metil-morfolina; NMP: N-metil-pirrolidina; Pr: propilo; Succ: 3-carboxi-propanoilo; PNA: 4-nitro-fenilamino o p-nitro-anilida; TBAF: fluoruro de tetra-n-butil-amonio; TBTU: tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio; TCEP: hidrocloreto de tris(2-carboxi-etil)fosfina; TFA: ácido trifluoroacético; THF: tetrahidrofurano; TIS: triisopropil-silano; TLC: cromatografía de capa fina; TMSE: trimetil-silil-etilo; Tris/HCl: hidrocloreto de tris(hidroximetil)aminometano.

EJEMPLO 9

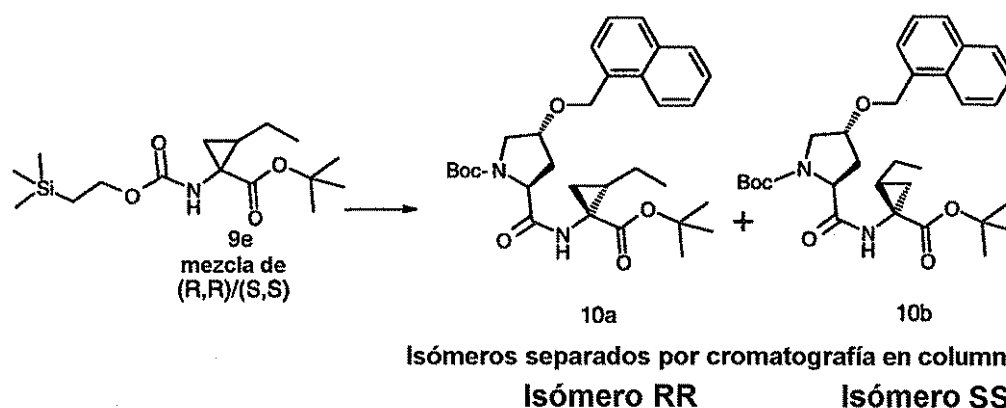
A) Síntesis de una mezcla de (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-ácidos 1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílicos



- 5 a) A una suspensión de cloruro de bencil-trietil-amonio (21,0 g, 92,19 mmol) en una solución acuosa al 50% de NaOH (92,4 g en 185 mL de H₂O) se le añadieron consecutivamente malonato de di-*tert*-butilo (20,0 g, 92,47 mmol) y 1,2-dibromo-butano (30,0 g, 138,93 mmol). La mezcla de reacción se agitó enérgicamente durante una noche a TA, luego se añadió una mezcla de hielo y agua. El producto bruto se extrajo con CH₂Cl₂ (3x) y se lavó consecutivamente con agua (3x) y salmuera. La capa orgánica se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró. El residuo se cromatografió con resolución rápida (7 cm, 2 a 4% de Et₂O en hexano) para proporcionar el deseado derivado de ciclopropano **9c** (19,1 g, 70,7 mmol, rendimiento 76%). ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,78-1,70 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,46 (s, 9H), 1,44-1,39 (m, 1H), 1,26-1,64 (m, 3H), 1,02 (t, 3H, J = 7,6 Hz).
- 10 b) A una suspensión de *tert*-butóxido de potasio (6,71 g, 59,79 mmol, 4,4 eq.) en éter seco (100 ml) a 0°C se le añadió H₂O (270 µL, 15,0 mmol, 1,1 eq.). Después de 5 min, se añadió a la suspensión el diéster **9c** (3,675 g, 13,59 mmol) en éter (10 mL). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA, luego se vertió en una mezcla de hielo y agua y se lavó con éter (3x). La capa acuosa se acidificó con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico a 0°C y se extrajo con AcOEt (3x). La capa orgánica combinada se lavó consecutivamente con agua (2x) y salmuera. Después del tratamiento usual (con Na₂SO₄, filtración y concentración), el deseado ácido **9d** se aisló como un aceite de color amarillo pálido (1,86 g, 8,68 mmol, rendimiento 64%). ¹H NMR (CDCl₃): δ 2,09-2,01 (m, 1H), 1,98 (dd, J = 3,8, 9,2 Hz, 1H), 1,81-1,70 (m, 1H), 1,66 (dd, J = 3,0, J = 8,2 Hz, 1H), 1,63-1,56 (m, 1H), 1,51 (s, 9H), 1,0 (t, J = 7,3 Hz, 3H).
- 15 c) Al ácido **9d** (2,017 g, 9,414 mmol) en benceno seco (32 mL) se le añadieron consecutivamente Et₃N (1,50 mL, 10,76 mmol, 1,14 eq.) y DPPA (2,20 mL, 10,21 mmol, 1,08 eq.). La mezcla de reacción se puso a reflujo durante 3,5 h y luego se añadió 2-trimetil-silil-etanol (2,70 mL, 18,84 mmol, 2,0 eq.). El reflujo se mantuvo durante una noche y luego la mezcla de reacción se diluyó con Et₂O y se lavó consecutivamente con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico, con agua, con NaHCO₃ acuoso saturado, con agua (2x) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración), el residuo se purificó por cromatografía con resolución rápida (5 cm, mezcla de 10% de AcOEt y hexano) para proporcionar el deseado carbamato **9e** (2,60 g, 7,88 mmol, rendimiento 84%) como un aceite de color amarillo pálido. MS (FAB) 330 (MH)⁺; ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,1 (bs, 1H), 4,18-4,13 (m, 2H), 1,68-1,38 (m, 4H), 1,45 (s, 9H), 1,24-1,18 (m, 1H), 1,00-0,96 (m, 5H), 0,03 (s, 9H).
- 20 d) Al carbamato **9e** (258 mg, 0,783 mmol) se le añadió una solución 1,0 M de TBAF en THF (940 µL, 0,94 mmol, 1,2 eq.). Después de 4,5 h se añadió una cantidad adicional de TBAF 1,0 M (626 µL, 0,63 mmol, 0,8 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA, se puso a reflujo durante 30 min y luego se diluyó con AcOEt. La solución se lavó consecutivamente con agua (2x) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) se aisló la deseada amina **9f** (84 mg, 0,453 mmol, rendimiento 58%) como un líquido de color amarillo pálido. ¹H NMR (CDCl₃): δ 1,96 (bs, 2H), 1,60-1,40 (m, 2H), 1,47 (s, 9H), 1,31-1,20 (m, 1H), 1,14 (dd, J = 4,1, 7,3 Hz, 1H), 1,02 (dd, J = 4,1, 9,2 Hz, 1H), 0,94 (t, J = 7,3 Hz, 3H).
- 35
- 40

EJEMPLO 10

5 Resolución química de (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxilatos de *t*-butilo (procedentes del Ejemplo 9):

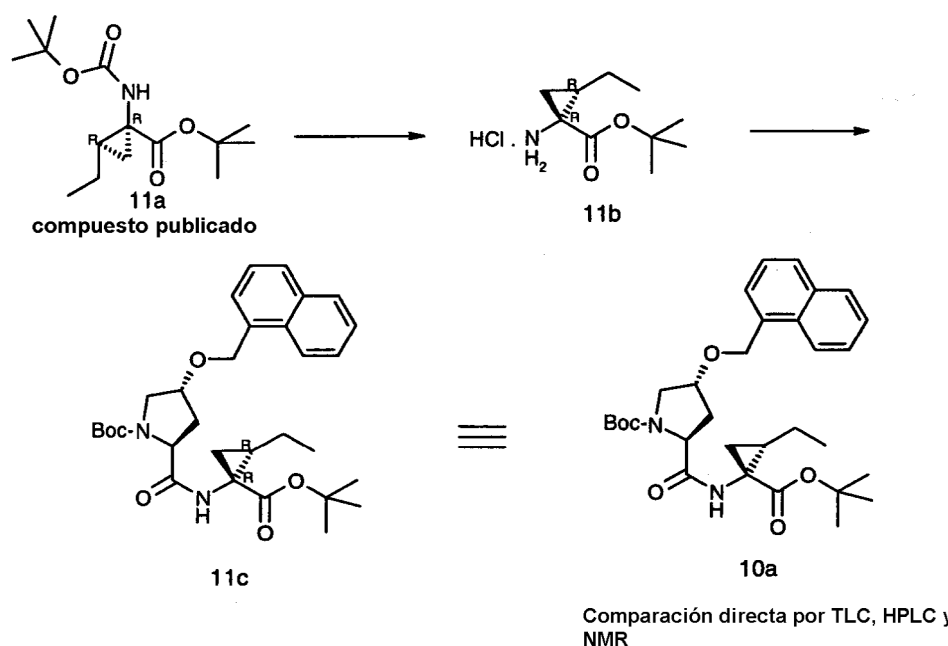


10 El compuesto **9e** procedente del Ejemplo 9 (8,50 g, 25,86 mmol) se trató con TBAF/THF 1 M (26 mL) a reflujo durante 45 min. La mezcla de reacción enfriada se diluyó con EtOAc, se lavó con agua (3x) y con salmuera (1x), luego se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se evaporó para proporcionar la amina libre como un aceite de color amarillo claro. La amina libre se disolvió en CH₂Cl₂ anhidro (120 mL), NMM (8,5 mL, 77,57 mmol), se añadieron consecutivamente el compuesto **4** (Ejemplo 4) (10,08 g, 27,15 mmol) y HATU (11,79 g, 31,03 mmol). La mezcla de reacción se agitó a TA durante una noche, luego se trató tal como se ha descrito con anterioridad. La mezcla diastereoisómera bruta se separó por

15 cromatografía con resolución rápida (eluyente - mezcla de hexano y Et₂O; 25:75), para proporcionar los dipéptidos **10a** (la mancha de elución menos polar) como una espuma de color blanco (4,42 g; 64% del rendimiento teórico) y **10b** (la mancha de elución más polar) como una espuma de color marfil (4 g, 57% del rendimiento teórico). En este momento, ambos isómeros se habían separado, pero todavía no se conocía la estereoquímica absoluta.

20 EJEMPLO 11

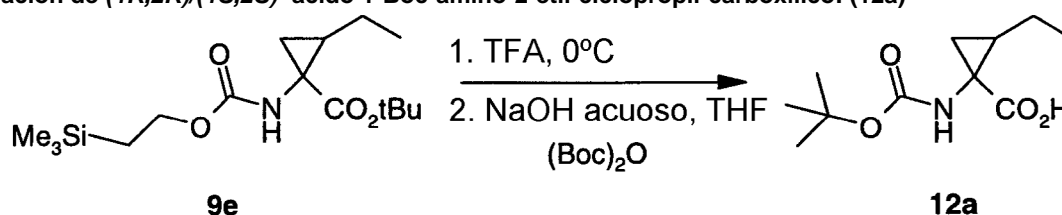
Determinación de la estereoquímica absoluta de los compuestos **10a** y **10b** por correlación con el (1*R*-amino-2*R*-etil-ciclopropil)-carboxilato de *t*-butilo conocido



El Profesor A. Charette, de la Universidad de Montreal, proporcionó el compuesto **11a** que tenía la estereoquímica absoluta que se muestra, la cual fue determinada por cristalografía de rayos X (J. Am. Chem. Soc., 1995, 117, 12721). El compuesto **11a** (13,2 mg, 0,046 mmol) se disolvió en una mezcla de HCl 1M y EtOAc (240 μ L) y se agitó durante aproximadamente 48 horas. La mezcla se evaporó hasta sequedad para proporcionar el compuesto **11b** como una pasta de color amarillo claro y se acopló al compuesto **4** (18 mg, 0,049 mmol) como se describe en el Ejemplo 10, utilizando NMM (20,3 μ L, 0,185 mmol) y HATU (21,1 mg, 0,056 mmol) en CH_2Cl_2 . El material bruto se purificó por cromatografía con resolución rápida (eluyente - mezcla de hexano y Et_2O ; 50:50) para proporcionar el dipéptido **11c** en forma de un aceite (7,7 mg; 31%). Por comparación de las TLC, HPLC y NMR se encontró que el dipéptido **11c** era idéntico al compuesto **10a** menos polar obtenido en el Ejemplo 10, identificando por lo tanto la estereoquímica absoluta del **10a** como (1*R*,2*R*).

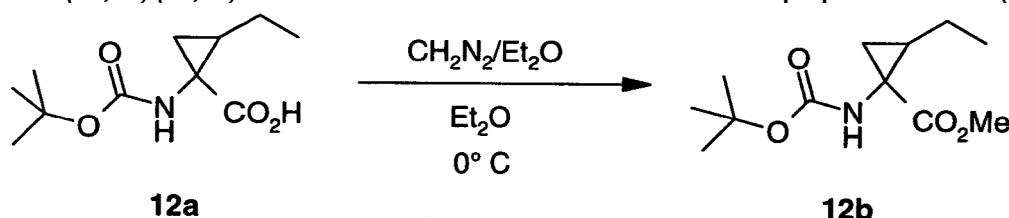
EJEMPLO 12

Preparación de (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-ácido 1-Boc-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílico: (**12a**)



El carbamato **9e** procedente del Ejemplo 9 (2,6 g, 7,88 mmol) se agitó durante 40 min en TFA a 0°C . Luego la mezcla se concentró y diluyó con THF (10 mL). Se añadió una solución acuosa de NaOH (700 mg, 17,5 mmol en 8,8 mL de H_2O) seguido por una solución en THF (13 mL) de $(\text{Boc})_2\text{O}$ (2,06 g, 9,44 mmol, 1,2 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA (el pH se mantuvo en 8 añadiendo una solución acuosa al 10% de NaOH cuando se necesitaba), luego se diluyó con H_2O , se lavó con Et_2O (3x) y se acidificó a 0°C con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3x) y se lavó consecutivamente con H_2O (2x) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO_4 , filtración y concentración) se aisló el deseado aminoácido protegido por Boc (**12a**) (788 mg, 3,44 mmol, rendimiento 44%). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 5,18 (bs, 2H), 1,64-1,58 (m, 2H), 1,55-1,42 (m, 2H), 1,45 (s, 9H), 1,32-1,25 (m, 1H), 0,99 (t, 3H, $J=7,3$ Hz).

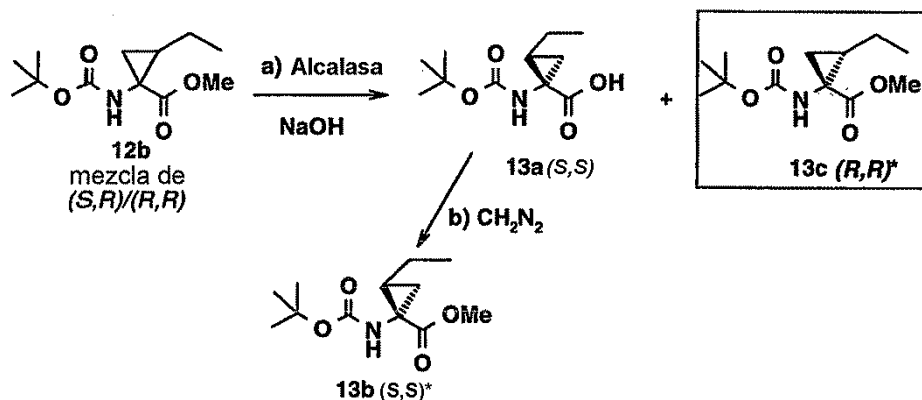
Preparación de (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-éster metílico de ácido 1-Boc-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílico: (**12b**)



El derivado con Boc **12a** (0,30 g, 1,31 mmol) se disolvió en Et_2O (10 mL) y se trató con diazometano recientemente preparado en Et_2O a 0°C hasta que persistiese el color amarillo de un ligero exceso de diazometano. Después de haber agitado durante 20 min a TA, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad para dar el compuesto **12b** como un aceite incoloro transparente (0,32 g, 100%). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 5,1 (bs, 1H), 3,71 (s, 3H), 1,62-1,57 (m, 2H), 1,55 (s, 9H), 1,53-1,43 (m, 1H), 1,28-1,21 (m, 2H), 0,95 (t, $J=7,3$ Hz, 3H).

EJEMPLO 13

Resolución enzimática de (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-Boc-1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxilato de metilo:



* Análisis por HPLC utilizando una columna de Chiralcel® OD-H

** Otros ésteres son también aceptables (p.ej. el Et)

5

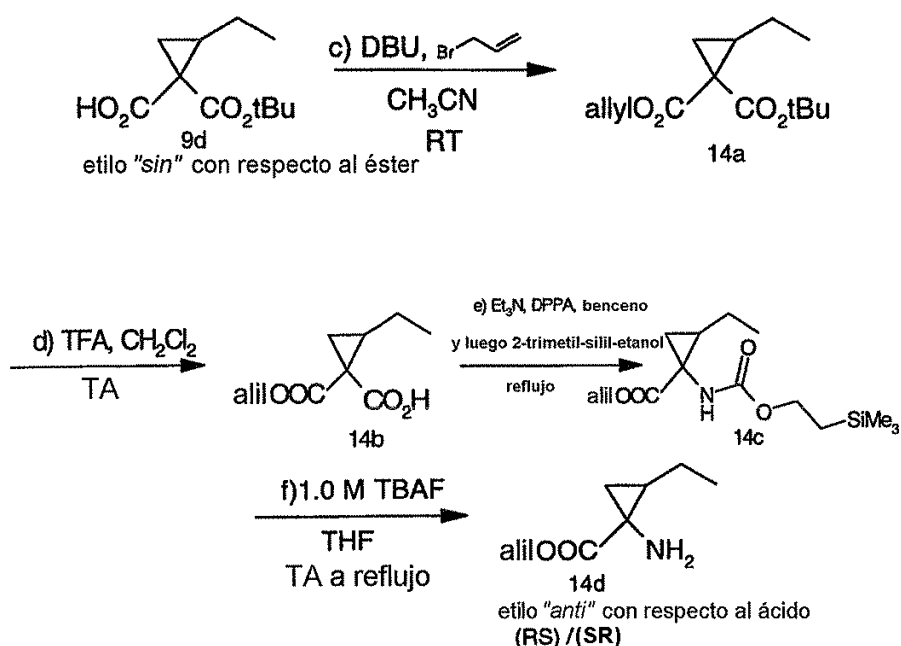
a) La mezcla de enantiómeros (1*S*,2*S*)/(1*R*,2*R*)-éster metílico de ácido 1-Boc-amino-2-etil-carboxílico del Ejemplo 10 (0,31 g, 1,27 mmol) se disolvió en acetona (3 mL) y luego se diluyó con agua (7 mL) mientras que se estaba agitando rápidamente. El pH de la solución se ajustó a 7,5 con NaOH acuoso 0,05 M antes de que se añadiese Alcalase® [extracto de 2,4 L procedente de Novo Nordisk Industrials] (300 mg). Durante la incubación, el pH fue estabilizado con NaOH y se ajustó un regulador del pH (pH-estado) para vigilar la adición de la solución de NaOH. Después de 40 h, la mezcla se diluyó con EtOAc y H₂O (con 5 mL de NaHCO₃ saturado) y las fases se separaron. La fase acuosa se acidificó con HCl acuoso al 10% y se extrajo con EtOAc, se secó (sobre MgSO₄), se filtró y se concentró para dar el ácido 13a (48,5 mg). La estereoquímica absoluta se determinó utilizando la correlación descrita en los Ejemplos 10 y 11.

15

b) El tratamiento de una parte alícuota del ácido 13a con diazometano en Et₂O para dar el éster metílico, seguido por un análisis mediante HPLC utilizando una columna quiral [Chiralcel® OD-H, mezcla de 2,5% de isopropanol y hexano, isocrática] pusieron de manifiesto una relación 51:1 del isómero (S,S).

20 **EJEMPLO 14**

Síntesis de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-ácido 1-amino-2-etil-ciclopropil-carboxílico



Partiendo del ácido **9d** descrito en el Ejemplo 9:

c) Al compuesto **9d** (1,023 g, 4,77 mmol) en CH₃CN (25 mL) se le añadieron consecutivamente DBU (860 μL, 5,75 mmol, 1,2 eq.) y bromuro de alilo (620 μL, 7,16 mmol, 1,5 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h a TA y luego se concentró. El residuo se diluyó con Et₂O y se lavó consecutivamente con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico (2x), con H₂O, con NaHCO₃ acuoso saturado, con H₂O (2x) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) el éster **14a** deseado se aisló (1,106 g, 3,35 mmol, rendimiento 91%) como un aceite incoloro. MS (FAB) 255 (MH⁺); ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,96-5,86 (m, 1H), 5,37-5,22 (m, 2H), 4,70-4,65 (m, 1H), 4,57-4,52 (m, 1H), 1,87-1,79 (m, 1H), 1,47 (s, 9H), 1,45-1,40 (m, 1H), 1,33-1,24 (m, 3H), 1,03 (t, J= 7,3 Hz, 3H).

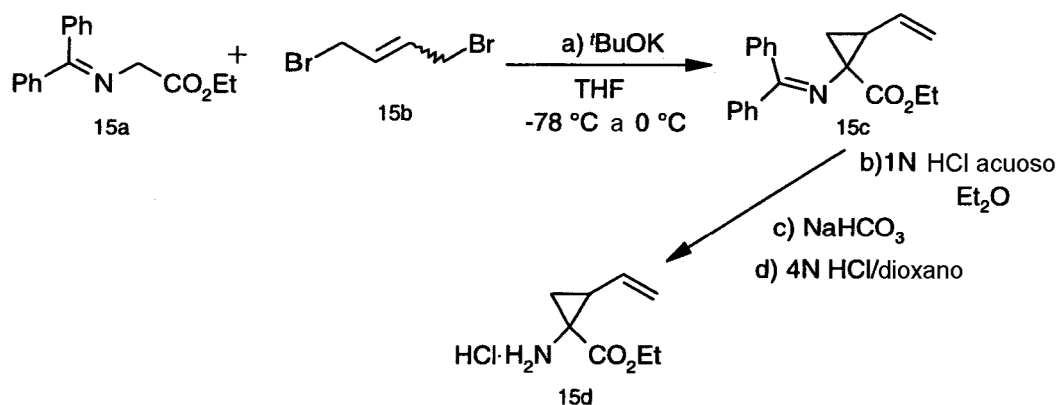
d) Al éster **14a** (1,106 g, 4,349 mmol) en CH₂Cl₂ seco (5 mL) a TA se le añadió TFA (5 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 1,5 h y luego se concentró para proporcionar el compuesto **14b** (854 mg, 4,308 mmol, rendimiento 99%). MS (FAB) 199 (MH⁺); ¹H NMR (CDCl₃): δ 5,99-5,79 (m, 1H), 5,40-5,30 (m, 2H), 4,71-4,62 (m, 2H), 2,22-2,00 (m, 2H), 1,95-1,88 (m, 1H), 1,84-1,57 (m, 2H), 0,98 (t, J= 7,3 Hz, 3H).

e) Al ácido **14b** (853 mg, 4,30 mmol) en benceno seco (14,8 mL) se le añadieron consecutivamente Et₃N (684 μL, 4,91 mmol, 1,14 eq.) y DPPA (992 μL, 4,60 mmol, 1,07 eq.). La mezcla de reacción se puso a reflujo durante 4,5 h y luego se añadió 2-trimetil-silil-etanol (1,23 mL, 8,58 mmol, 2,0 eq.). El reflujo se mantuvo durante una noche y luego la mezcla de reacción se diluyó con Et₂O y se lavó consecutivamente con una solución acuosa al 10% de ácido cítrico, con agua, con NaHCO₃ acuoso saturado, con agua (2x) y con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) el residuo se cromatógrafió con resolución rápida (5 cm, mezcla de 10 a 15% de AcOEt y hexano) para proporcionar el carbamato **14c** (1,212 g, 3,866 mmol, rendimiento 90%) como un aceite de color amarillo pálido. MS (FAB) 314 (MH⁺); ¹H NMR (CDCl₃) δ 5,93-5,84 (m, 1H), 5,32-5,20 (m, 2H), 5,05 (bs, 1H), 4,60-4,56 (m, 2H), 4,20-4,11 (m, 2H), 1,71-1,60 (m, 3H), 1,39-1,22 (m, 1H), 1,03 (t, J= 7,6 Hz, 3H), 0,96-0,86 (m, 1H), 0,04 (s, 9H).

f) Al carbamato **14c** (267 mg, 0,810 mmol) se le añadió una solución 1,0 M de TBAF en THF (1,62 mL, 1,62 mmol, 2,0 eq.). La mezcla de reacción se agitó durante una noche a TA, se puso a reflujo durante 30 min y luego se diluyó con AcOEt. La solución se lavó consecutivamente con agua (2x) y con salmuera. Después del tratamiento usual (sobre MgSO₄, filtración y concentración) se aisló la amina **14d** deseada (122 mg, 0,721 mmol, rendimiento 89%) como un líquido de color amarillo pálido. ¹H NMR (CDCl₃) δ 5,94-5,86 (m, 1H), 5,31-5,22 (m, 2H), 4,58 (d, J = 5,7 Hz, 2H), 1,75 (bs, 2H), 1,61-1,53 (m, 2H), 1,51-1,42 (m, 2H), 1,00 (t, J= 7,3 Hz, 3H), 0,70-0,62 (m, 1H).

EJEMPLO 15

Síntesis de (1R,2S)/(1S,2R)-1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilato de etilo:



vinilo "sin" con respecto al éster

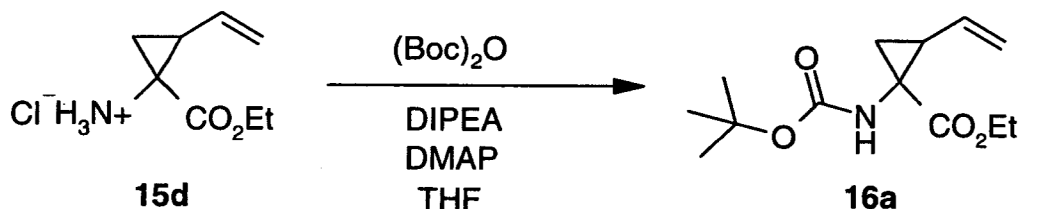
a) A una solución en THF (180 mL) de *tert.*-butóxido de potasio (4,62 g, 41,17 mmol, 1,1 eq.) a -78°C se le añadió la imina **15a** comercialmente disponible (10,0 g, 37,41 mmol) en THF (45 mL). La mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó a esta temperatura durante 40 min. Luego la mezcla se enfrió de vuelta a -78°C para la adición de 1,4-dibromobuteno **15b** (8,0 g, 37,40 mmol) y luego se agitó a 0°C durante 1 h y se enfrió de retorno a -78°C para la adición de *tert.*-butóxido de potasio (4,62 g, 41,17 mmol, 1,1 eq.). La mezcla de reacción se agitó finalmente durante una hora más a 0°C y se concentró para proporcionar el compuesto **15c**.

b, c, d) El compuesto **15c** se recogió en Et₂O (265 mL) y se trató con una solución acuosa 1 N de HCl (106 mL). Después de 3,5 h a TA, las capas fueron separadas y la capa acuosa fue lavada con Et₂O (2x) y alcalinizada con una solución acuosa saturada de NaHCO₃. La amina deseada se extrajo con Et₂O (3x) y el extracto orgánico combinado se lavó con salmuera. Después del tratamiento usual (con MgSO₄, filtración y concentración) el residuo se trató con una solución 4 N de HCl en dioxano (187 mL, 748 mmol). Después de concentración, la sal hidrocloreuro **15d** se aisló como un sólido de

color pardo (2,467 g, 12,87 mmol, rendimiento 34%). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 9,17 (bs, 3H), 5,75-5,66 (m, 1H), 5,39 (d, $J = 17,2$ Hz, 1H), 5,21 (d, $J = 10,2$ Hz, 1H), 4,35-4,21 (m, 2H), 2,77-2,70 (m, 1H), 2,05 (dd, $J = 6,4, 10,2$ Hz, 1H), 1,75 (dd, $J = 6,4, 8,3$ Hz, 1H), 1,33 (t, $J = 7,0$ Hz, 3H).

5 EJEMPLO 16

Preparación de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-éster etílico de ácido 1-Boc-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxílico:

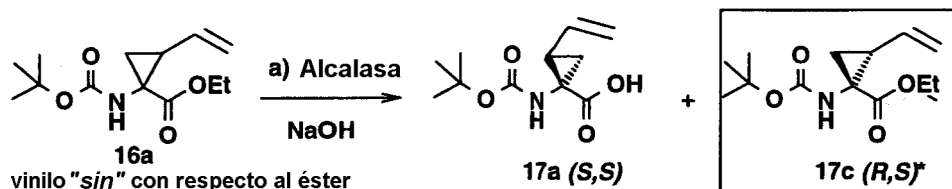


vinilo "sin" con respecto al éster

10 La sal hidrocloreto **15d** (1,0 g, 5,2 mmol) y $(\text{Boc})_2\text{O}$ (1,2 g, 5,7 mmol) se disolvieron en THF (30 mL) y se trataron con DMAP (0,13 g, 1,04 mmol, 0,2 eq.) y diisopropil-etilamina (2,8 mL, 15,6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 24 h antes de ser diluida con EtOAc (40 mL) y se lavó consecutivamente con una solución (acuosa) saturada de NaHCO_3 , con HCl acuoso al 5% y con salmuera saturada. La fase orgánica se secó (sobre MgSO_4), se filtró y se concentró para dar, después de purificación por cromatografía con resolución rápida (en una mezcla de 15% de EtOAc y hexano), el compuesto **16a** (0,29 g, 23%). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 5,80-5,72 (m, 1H), 5,29-5,25 (dd, $J = 17,2, 17,2$ Hz, 1H), 5,24-5,1 (bs, 1H), 5,10 (dd, $J = 9,2, 9,2$ Hz, 1H), 4,22-4,13 (m, 2H), 2,15-2,04 (m, 1H), 1,85-1,73 (bs, 1H), 1,55-1,5 (m, 1H), 1,49 (s, 9H), 1,25 (t, $J = 7,3$ Hz, 3H).

20 EJEMPLO 17

Resolución enzimática de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*) 1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilato de etilo:



*Análisis por HPLC utilizando una columna de Chiracel® OD-H

25 a) El derivado racémico **17a** (0,29 g, 1,14 mmol) se disolvió en acetona (5 mL) y se diluyó con H_2O (10 mL). El pH se ajustó con NaOH acuoso 0,2 N a 7,2 antes de que se añadiese Alcalase® (300 mg). Para mantener constante el pH durante la incubación, se añadió una solución de NaOH mediante un valorador con pH-estato durante 9 días hasta que se hubiera añadido la cantidad teórica de la base. Después de extracción con un ácido y con una base como se describe en el Ejemplo 13, se aislaron el éster sin hidrolizar (0,15 g, 100%) y el material hidrolizado (0,139 g, 95%). El análisis del éster sin hidrolizar por HPLC utilizando una columna quiral, puso de manifiesto una relación de 43:1 del compuesto **17c** deseado al que se asignó la estereoquímica (R,S) basándose en la correlación química, como se describe en los Ejemplos 10 y 11.

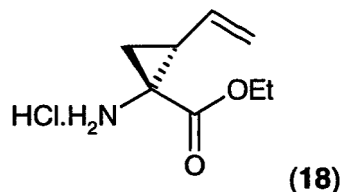
30 Condiciones para el análisis por HPLC: columna Chiralcel® OD-H (4,6 mm x 25 cm), condiciones isocráticas utilizando una fase móvil a base de una mezcla de 2,5% de isopropanol y hexano.

35

EJEMPLO 18

Resolución de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilato por cristalización con ácido dibenzoil-D-tartárico

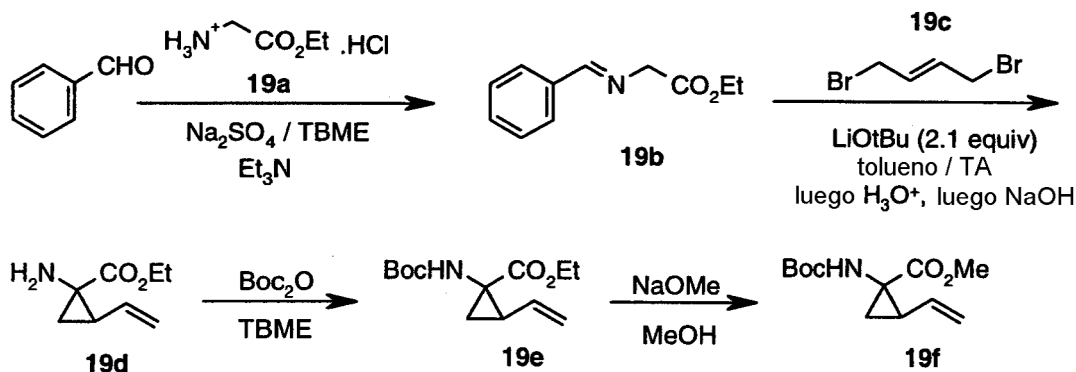
5



10 A una solución de una mezcla racémica bruta de (1*S*,2*R* y 1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinil-ciclopropil-carboxilatos de etilo [obtenida a partir del éster etílico de N-(difenilmetileno)-glicina (25,0 g, 93,5 mol) como se describe en el Ejemplo 15] en EtOAc (800 mL) se le añadió ácido dibenzoil-D-tartárico (33,5 g, 93,5 mol). La mezcla se calentó a reflujo, se dejó a TA durante 15 min y luego se enfrió a 0°C. Se obtuvo un sólido de color blanco después de 30 min. El sólido se filtró, se lavó con EtOAc (100 mL) y se secó en aire. El sólido se suspendió en acetona (70 mL), se sonicó y se filtró (3x). Luego el sólido se recrystalizó dos veces en acetona caliente (tanda cosechada A). Las aguas madres se concentraron y el residuo se recrystalizó tres veces en acetona caliente (tanda cosechada B). Las dos tandas cosechadas de los sólidos amorfos de color blanco de sal de ácido dibenzoil-D-tartárico se combinaron (5,53 g) y suspendieron en una mezcla de Et₂O (250 mL) y solución saturada de NaHCO₃ (150 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (sobre MgSO₄) y se filtró. El material filtrado se diluyó con una mezcla de HCl 1 N y Et₂O (100 mL) y se concentró bajo presión reducida. El residuo oleoso se evaporó con CCl₄ para proporcionar hidrocloreto de 1(*R*)-amino-2(*S*)-vinil-ciclopropano-carboxilato de etilo (940 mg, rendimiento 11%) como un sólido higroscópico de color blanco: $[\alpha]_D^{25} +39,5^\circ$ (c 1,14 MeOH); $[\alpha]_{365}^{25} +88,5^\circ$ (c 1,14 MeOH); ¹H NMR (DMSO-d₆) δ 9,07 (s ancho 2H), 5,64 (ddd, J=17,2, 10,4, 8,7 Hz, 1H), 5,36 (dd, J=17,2, 1,6 Hz, 1H), 5,19 (dd, J=10,4, 1,6 Hz, 1H), 4,24-4,16 (m, 2H), 2,51-2,45 (m, picos impedidos por DMSO, 1H), 1,84 (dd, J=10,0, 6,0 Hz, 1H), 1,64 (dd, J=8,3, 6,0 Hz, 1H), 1,23 (t, J=7,1 Hz, 3H); MS (ESI) m/z 156 (MH)⁺; se determinó que la pureza enantiomérica era de 91% ee según el análisis por HPLC (columna CHIRALPAK AS®, mezcla de Hex y i-PrOH) del derivado de Boc.

25

EJEMPLO 19

Preparación de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-hidrocloreto de éster metílico de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico (19f)

30

Preparación de la imina 19b

35 El hidrocloreto del éster etílico de glicina 19a (1519,2 g, 10,88 mol, 10 eq.) se suspendió en terc.-butil-metil-éter (8 L). Se añadieron benzaldehído (1115 g, 10,88 mol, 1 eq.) y sulfato de sodio anhidro (773 g, 5,44 mol, 0,5 eq.) y la mezcla se enfrió a 5°C en un baño de hielo y agua. Se añadió gota a gota trietilamina (2275 mL, 16,32 mol, 1,5 eq.) en el transcurso de 15 min (con uso de 0,5 L de terc.-butil-metil-éter para enjuagados) y la mezcla se agitó durante 40 h a la temperatura ambiente. Luego la mezcla de reacción se sofocó por adición de agua enfriada con hielo (5 L) y la capa orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con terc.-butil-metil-éter (1 L) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con una mezcla de NaHCO₃ saturado (400 mL) y agua (1,6 L) y luego con salmuera. La solución se secó sobre MgSO₄, se concentró bajo presión reducida y el aceite residual de color amarillo se secó hasta peso constante en vacío. La imina 19b se obtuvo como un aceite amarillo espeso que solidifica a -20°C (2001 g, rendimiento 96%): ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,30 (s, 1H), 7,79 (m, 2H), 7,48-7,39 (m, 3H), 4,40 (d, J = 1,3 Hz, 2H), 4,24 (q, J = 7 Hz, 2H), 1,31 (t, J = 7 Hz, 3H).

40

Preparación de una mezcla racémica de N-Boc-(1R,2S)/(1S,2R)-hidrocloruros de ésteres etílicos de ácidos 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílicos **19e**:

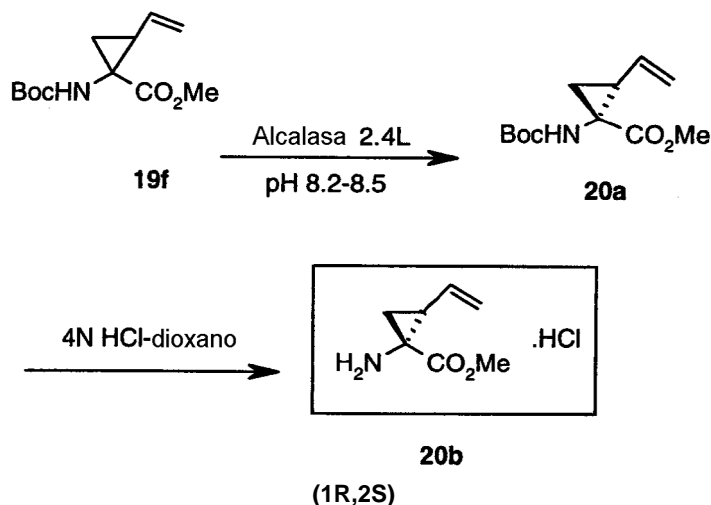
5 Se suspendió *tert.*-butóxido de litio (4,203 g, 52,5 mmol, 2,1 equiv.) en tolueno seco (60 mL). La imina **19b** (5,020 g, 26,3 mmol, 1,05 equiv.) y el dibromuro **19c** (5,348 g, 25 mmol, 1 equiv.) se disolvieron en tolueno seco (30 mL) y esta solución se añadió gota a gota durante 30 min a la solución agitada de LiOtBu a la temperatura ambiente. Después de compleción, la mezcla de color rojo oscuro se agitó durante 10 min adicionales y se sofocó por adición de agua (50 mL) y *tert.*-butil-metil-éter (TBME, 50 mL). La fase acuosa se separó y se extrajo una segunda vez con TBME (50 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se añadió HCl 1 N (60 mL) y la mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 2 h. 10 La fase orgánica se separó y extrajo con agua (40 mL). Las fases acuosas se combinaron luego, se saturaron con sal (35 g) y se añadió TBME (50 mL). La mezcla agitada se alcalinizó luego a pH 13 - 14 por cuidadosa adición de NaOH 10 N. La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con TBME (2 x 50 mL). Los extractos orgánicos que contenían la amina libre **19d** se combinaron y se añadió carbonato de di-*tert.*-butilo (5,46 g, 25 mmol, 1 equiv.). Después de haber agitado durante una noche a la temperatura ambiente, la TLC puso de manifiesto algo de amina libre sin reaccionar. Se 15 añadió una cantidad adicional de di-carbonato de di-*tert.*-butilo (1,09 g, 5 mmol, 0,2 equiv.) y la mezcla se puso a reflujo durante 2 h, en cuyo punto el análisis por TLC indicó una conversión completa del compuesto **19d** en el carbamato **19e**. La solución se enfrió a la temperatura ambiente, se secó sobre MgSO₄ y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía con resolución rápida utilizando mezclas de 10% y luego 20% de EtOAc y hexano como eluyente. El compuesto **19e** purificado se obtuvo como un aceite de color amarillo transparente que solidificaba 20 lentamente en vacío (4,014 g, rendimiento 63%). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,77 (ddd, J = 17, 10, 9 Hz, 1H), 5,28 (dd, J = 17, 1,5 Hz, 1H), 5,18 (s ancho, 1H), 5,11 (dd, J = 10, 1,5 Hz, 1H), 4,24-4,09 (m, 2H), 2,13 (q, J = 8,5 Hz, 1H), 1,79 (m ancho, 1H), 1,46 (m, 1H), 1,45 (s, 9H), 1,28 (t, J = 7 Hz, 3H).

Preparación del compuesto del título **19f** por medio de *trans*-esterificación del compuesto **19e**:

25 El éster etílico **19e** (10,807 g, 42,35 mmol) se disolvió en metanol seco (50 mL) y se añadió una solución de metóxido de sodio en MeOH (al 25% p/p, 9,7 mL, 42 mmol, 1 equivalente). La mezcla se calentó a 50°C durante 2 h, en cuyo punto el análisis por TLC indicó una transesterificación completa (**19e** R_f 0,38, **19f** R_f 0,34 en una mezcla 20% de EtOAc y hexano). La mezcla de reacción se enfrió a la temperatura ambiente y se acidificó a pH 4 utilizando HCl 4 N en dioxano. 30 El NaCl precipitado se eliminó por filtración (con uso de *tert.*-butil-metil-éter para los lavados) y los materiales volátiles se eliminaron bajo presión reducida. Se añadió *tert.*-butil-metil-éter (100 mL) al residuo y los sólidos se eliminaron por filtración. La evaporación del material filtrado bajo presión reducida y la desecación bajo vacío dieron el éster metílico **19f** puro (10,11 g, rendimiento 99%). ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ 5,75 (ddd, J = 17, 10, 9 Hz, 1H), 5,28 (dd, J = 17, 1 Hz, 1H), 5,18 (s ancho, 1H), 5,11 (ddd, J = 10, 1,5, 0,5 Hz, 1H), 3,71 (s, 3H), 2,14 (q, J = 9 Hz, 1H), 1,79 (m ancho, 1H), 1,50 (m ancho, 1H), 1,46 (s, 9H). 35

EJEMPLO 20

40 **Resolución enzimática del (1R,2S)/(1S,2R)-hidrocloruro de éster metílico de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico**



Preparación de N-Boc-(1R,2S)-éster metílico de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico **20a**:

45 El éster racémico **19f** (0,200 g, 0,83 mmol) se disolvió en acetona (3 mL) y se añadió agua (7 mL). Se añadió NaOH 0,05 M (1 gota) para llevar el pH de la solución a ~8 y luego se añadió Alcalase® 2.4L (Novo Nordisk Biochem, 0,3 g en un mL de agua). La mezcla se agitó enérgicamente a la temperatura ambiente, manteniéndose el pH de la solución en 8 utilizando un valorador automático. Al comienzo de los días 4^o y 5^o de agitar a pH 8, se añadió una solución adicional de

5 enzima (2 x 0,3 g). Después de un total de 5 días, se consumió un total de 8,3 mL de NaOH 0,05 M. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y agua y la fase orgánica se separó. Después de haber lavado con salmuera, el extracto orgánico se secó (sobre MgSO_4) y se concentró en vacío. El compuesto **20a** (0,059 g, rendimiento 30%) se obtuvo como un aceite transparente: la ^1H NMR era idéntica a la del compuesto **19f**. HPLC (Chiralcel ODH, 4,6 x 250 mm, mezcla isocrática al 1% de EtOH en hexano, caudal 0,8 mL/min): (1R,2S)-2 R_t 19,3 min (97%); (1S,2R)-2 R_t 17,0 min (3%).

Preparación del (1R,2S)-hidrocloruro de éster metílico de ácido 1-amino-2-vinil-ciclopropano-carboxílico **20b**:

10 El compuesto **20a** (39,96 g, 165,7 mmol) se disolvió en dioxano (25 mL) y la solución se añadió gota a gota con agitación a HCl 4 N en dioxano (Aldrich, 250 mL). Después de 45 min, el análisis por TLC indicó una desprotección completa. Los materiales volátiles se eliminaron bajo presión reducida y el residuo se evaporó conjuntamente dos veces con MeOH (2 x 100 mL). Se añadieron éter (300 mL) y MeOH (10 mL) al residuo oleoso de color pardo y la mezcla se agitó durante una noche a la temperatura ambiente, dando como resultado la precipitación de un material semi-sólido. Se añadió una cantidad adicional de MeOH (15 mL) y se continuó la agitación durante 6 h, en cuyo punto se recogió un sólido de color amarillento por filtración. El producto se lavó con 5% de MeOH en éter (50 mL) y con éter (2 x 50 mL), y se secó en vacío para dar el compuesto **20b** como un sólido de color amarillento (22,60 g, rendimiento 76%). Los materiales filtrados (inclusive los líquidos de lavado) se evaporaron en vacío para dar una cantidad adicional del compuesto **20b** como un aceite de color pardo (7,82 g, rendimiento 26%). Ambas fracciones fueron suficientemente puras para utilizarse en la síntesis de inhibidores de proteasa de HCV: $[\alpha]_D^{25} +38,2^\circ$ (c 1,0, MeOH). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 9,15 (s ancho, 3H), 5,65 (ddd, J = 17, 10, 9 Hz, 1H), 5,36 (dd, J = 17, 1,5 Hz, 1H), 5,19 (dd, J = 10, 1,5 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,50 (q, solapa con señal de DMSO, J = 9 Hz, 1H), 1,86 (dd, J = 10, 6 Hz, 1H), 1,64 (dd, J = 8, 6 Hz, 1H).

15

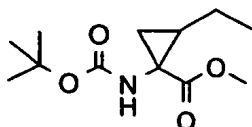
20

REIVINDICACIONES

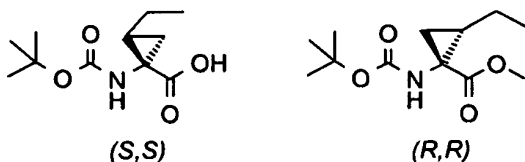
1. Un procedimiento para la resolución de una mezcla enantiomérica de éster metílico de ácidos 1-amino-2-vinilciclopropil-carboxílicos, o una mezcla N-protégida de los mismos, que comprende la etapa de tratar dicha mezcla con una esterasa para obtener un enantiómero deseado de éster metílico de ácidos 1-amino-2-vinilciclopropil-carboxílicos o la forma N-protégida del mismo.

2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dicha esterasa es Alcalase®.

3. Un procedimiento para la resolución de una mezcla enantiomérica de (1*R*,2*R*)/(1*S*,2*S*)-Boc-1-amino-2-etilciclopropil-carboxilato de metilo que tiene la fórmula:

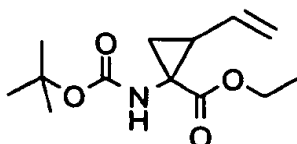


que comprende tratar la mezcla con Alcalase® para proporcionar productos de las fórmulas:

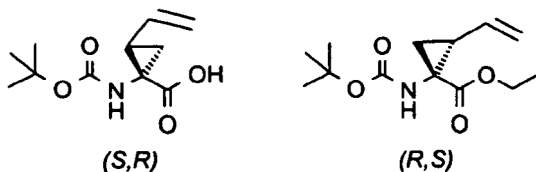


4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la mezcla se trata con Alcalase® bajo condiciones en las que se controla el pH.

5. Un procedimiento para la resolución de una mezcla enantiomérica de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-Boc-1-amino-2-vinilciclopropil-carboxilato de etilo que tiene la fórmula:

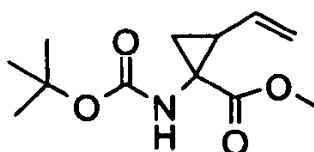


que comprende tratar la mezcla con Alcalase® para proporcionar productos de las fórmulas:

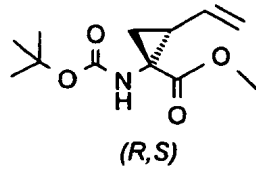


6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la mezcla se trata con Alcalase® bajo condiciones en las que se controla el pH.

7. Un procedimiento para la resolución de una mezcla enantiomérica de (1*R*,2*S*)/(1*S*,2*R*)-Boc-1-amino-2-vinilciclopropil-carboxilato de metilo que tiene la fórmula:



que comprende tratar la mezcla con Alcalase® para proporcionar un producto de la fórmula:



- 5 8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la mezcla se trata con Alcalase® bajo condiciones en las que se controla el pH.