

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 431 928**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 1/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2008 E 08834252 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.07.2013 EP 2203444**

54 Título: **Formas sólidas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)-pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo**

30 Prioridad:

28.09.2007 US 975846 P

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

28.11.2013

73 Titular/es:

**LEXICON PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
8800 TECHNOLOGY FOREST PLACE
THE WOODLANDS, TX 77381, US**

72 Inventor/es:

**BEDNARZ, MARK, S.;
DE PAUL, SUSAN;
KANAMARLAPUDI, RAMANAIAH, C.;
PERLBERG, ANETT y
ZHANG, HAIMING**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 431 928 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

Formas sólidas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo

Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional estadounidense n.º 60/975.846, presentada el 28 de septiembre de 2007.

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a formas sólidas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo y sales del mismo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Diferentes formas sólidas del mismo compuesto pueden tener propiedades sustancialmente diferentes. Por ejemplo, la forma amorfa de un fármaco puede presentar diferentes características de disolución y diferentes patrones de biodisponibilidad que su(s) forma(s) cristalina(s), propiedades que pueden afectar a cómo debe administrarse el fármaco para lograr un efecto óptimo. Formas amorfas y cristalinas de un fármaco también pueden tener diferentes propiedades de manipulación (por ejemplo, fluidez, compresibilidad), velocidades de disolución, solubilidades y estabildades, todas las cuales pueden afectar a la fabricación de formas de dosificación. En consecuencia, es deseable el acceso a múltiples formas de un fármaco por una variedad de motivos. Además, las autoridades reguladoras (por ejemplo, la Food and Drug Administration estadounidense) pueden requerir la identificación de todas las formas sólidas (por ejemplo, polimórficas) de una nueva sustancia farmacológica antes de que la contengan productos. A. Goho, Science News 166(8):122-123 (2004).

Los compuestos pueden existir en una o más formas cristalinas, pero su existencia y sus características no pueden predecirse con ninguna certeza. Además, no existe ningún procedimiento convencional para la preparación de todas las formas polimórficas posibles de un compuesto. E incluso tras haberse identificado un polimorfo, la existencia y las características de otras formas sólo pueden determinarse mediante experimentación adicional. Id.

El documento WO 2007/089335 da a conocer compuestos multicíclicos que son inhibidores de triptófano hidroxilasa.

SUMARIO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere, en parte, a formas sólidas cristalinas del inhibidor de triptófano hidroxilasa (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo y sales farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una realización de la invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden las formas sólidas descritas en el presente documento.

Otra realización se refiere a métodos de tratamiento, gestión y prevención de diversas enfermedades y estados, que comprenden el uso de las formas sólidas descritas en el presente documento.

BREVE DESCRIPCION DE LAS FIGURAS

La figura 1 es un patrón de difracción de polvo de rayos X de una forma cristalina de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo. El difractograma se obtuvo usando un difractor MiniFlex de Rigaku (radiación K α de cobre).

La figura 2 es un patrón de difracción de polvo de rayos X de una forma cristalina de hipurato de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo. El difractograma se obtuvo usando un aparato D8 Advance de Bruker (radiación K α de cobre).

La figura 3 es un espectro de FT-Raman de una forma cristalina de hipurato de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo. El espectro se obtuvo usando un espectrómetro RFS100 de Bruker (excitación a 1064 nm).

La figura 4 es un patrón de difracción de polvo de rayos X de una forma cristalina de succinato de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo. El difractograma se obtuvo usando un aparato D8 Advance de Bruker (radiación K α de cobre).

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Esta invención se refiere, en parte, a formas sólidas cristalinas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-

metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo y sales farmacéuticamente aceptable del mismo. El compuesto es un inhibidor de triptófano hidroxilasa. Cuando se administra a animales, el compuesto disminuye los niveles de serotonina periférica, y puede usarse para tratar una amplia gama de enfermedades y trastornos. Véase la solicitud de patente estadounidense n.º 60/874.596, presentada el 12 de diciembre de 2006.

Esta invención también se refiere a formas de dosificación que comprenden formas sólidas cristalinas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo y sales farmacéuticamente aceptable del mismo y a métodos de su uso.

Definiciones

A menos que se indique lo contrario, las expresiones “enfermedad o trastorno mediado por serotonina periférica” y “enfermedad y trastorno mediado por serotonina periférica” significan una enfermedad y/o trastorno que tiene uno o más síntomas, cuya gravedad se ve afectada por los niveles de serotonina periférica.

A menos que se indique lo contrario, los términos “gestionar”, “que gestiona” y “gestión” abarcan la prevención de la reaparición de la enfermedad o trastorno especificado en un paciente que ya ha padecido la enfermedad o trastorno, y/o el alargamiento del tiempo que un paciente que ha padecido la enfermedad o trastorno permanece en remisión. Los términos abarcan la modulación del umbral, el desarrollo y/o la duración de la enfermedad o trastorno, o el cambio del modo en el que un paciente responde a la enfermedad o trastorno.

A menos que se indique lo contrario, los términos “prevenir”, “que previene” y “prevención” contemplan una acción que se produce antes de que un paciente comience a padecer la enfermedad o trastorno especificado, que inhibe o reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno. En otras palabras, los términos abarcan la profilaxis.

A menos que se indique lo contrario, una “cantidad profilácticamente eficaz” de un compuesto es una cantidad suficiente para prevenir una enfermedad o estado, o uno o más síntomas asociados con la enfermedad o estado, o para prevenir su reaparición. Una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otros agentes, que proporciona un beneficio profiláctico en la prevención de la enfermedad o estado. La expresión “cantidad profilácticamente eficaz” puede abarcar una cantidad que mejora la profilaxis global o potencia la eficacia profiláctica de otro agente profiláctico.

A menos que se indique lo contrario, una “cantidad terapéuticamente eficaz” de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o la gestión de una enfermedad o estado, para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o estado. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o la gestión de la enfermedad o estado. La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” puede abarcar una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita los síntomas o las causas de una enfermedad o estado, o potencia la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

A menos que se indique lo contrario, los términos “tratar”, “que trata” y “tratamiento” contemplan una acción que se produce mientras un paciente está padeciendo la enfermedad o trastorno especificado, que reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno o uno o más de sus síntomas, o retrasa o ralentiza la progresión de la enfermedad o trastorno.

A menos que se indique lo contrario, el término “incluyen” tiene el mismo significado que “incluyen, pero sin limitarse a” y el término “incluye” tiene el mismo significado que “incluye, pero sin limitarse a”. De manera similar, la expresión “tal como” tiene el mismo significado que la expresión “tal como, pero sin limitarse a”.

A menos que se indique lo contrario, uno o más adjetivos que preceden inmediatamente a una serie sustantivos deben interpretarse como que se aplican a cada uno de los sustantivos. Por ejemplo, la expresión “alquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido” tiene el mismo significado que “alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido”.

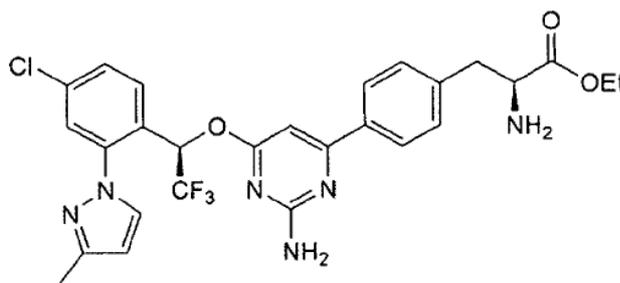
A menos que se indique lo contrario, una estructura o nombre de un compuesto o género de compuestos abarca todas las formas de ese compuesto o género de compuestos y todas las composiciones que comprenden ese compuesto o género de compuestos.

También debe indicarse que cualquier átomo mostrado en un dibujo con valencias no satisfechas se supone que está unido a átomos de hidrógeno suficientes para satisfacer las valencias. Además, enlaces químicos representados con una línea continua paralela a una línea discontinua abarcan tanto enlaces sencillos como dobles (por ejemplo, aromáticos), si las valencias lo permiten. Estructuras que representan compuestos con uno o más centros quirales, pero que no indican estereoquímica (por ejemplo, con líneas en negrita o discontinuas), abarcan estereoisómeros puros y mezclas de los mismos (por ejemplo, mezclas racémicas). De manera similar, los nombres

de compuestos que tienen uno o más centros quirales que no especifican la estereoquímica de esos centros abarcan estereoisómeros puros y mezclas de los mismos.

Formas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo

Esta invención se refiere a formas sólidas cristalinas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo:



y sales farmacéuticamente aceptable del mismo.

Una realización de la invención abarca base libre de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino. Una forma de este compuesto tiene un punto de fusión de aproximadamente 104°C tal como se determina mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) (temperatura de comienzo). Esta forma proporciona un patrón de difracción de polvo de rayos X (XRPD) que contiene picos a aproximadamente 10,7, 12,2, 12,8, 17,7 y/o 22,0 grados 2θ. Tal como conocen bien los expertos en la técnica, las intensidades relativas de los picos en un patrón de XRPD de un material cristalino pueden variar dependiendo de cómo se prepare la muestra y cómo se recojan los datos. Teniendo esto presente, en la figura 1 se proporciona un ejemplo de un patrón de XRPD de esta forma cristalina.

Otra realización abarca hipurato de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino. Una forma de este compuesto tiene un punto de fusión de aproximadamente 142°C (temperatura de comienzo de DSC, con un pico en aproximadamente 147°C). Esta forma proporciona un patrón de XRPD que contiene picos a aproximadamente 8,2, 9,5, 12,6, 16,9, 21,8, 22,0, 22,7, 24,3 y/o 29,1 grados 2θ. En la figura 2 se proporciona un ejemplo de un patrón de XRPD de esta forma cristalina. En la figura 3 se proporciona un ejemplo de un espectro de FT-Raman de esta forma cristalina.

Otra realización abarca succinato de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino. Una forma de este compuesto proporciona un patrón de XRPD que contiene picos a aproximadamente 7,7, 11,5, 11,7, 15,7, 17,9, 21,1 y/o 23,2 grados 2θ. En la figura 4 se proporciona un ejemplo de un patrón de difracción de polvo de rayos X de esta forma cristalina.

Esta invención se refiere a sólidos que son mezclas de formas tanto amorfas como cristalinas. Determinados de tales sólidos comprenden (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en una cantidad de al menos aproximadamente el 50, el 75, el 80, el 85, el 90, el 95 ó el 99 por ciento en peso.

Pueden prepararse sales cristalinas de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo: poniendo en contacto una disolución que comprende (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo con un ácido farmacéuticamente aceptable en condiciones suficientes para proporcionar una sal de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo; reduciendo la solubilidad de la sal en la disolución en condiciones suficientes para proporcionar una sal cristalina de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo; y aislando la sal cristalina.

La disolución puede comprender disolventes tales como acetato de isopropilo, acetato de etilo, etanol, isopropanol, metil t-butil éter y metil isobutilcetona. Los ácidos particulares incluyen ácido hipúrico y succínico.

La solubilidad de la sal en la disolución puede reducirse enfriando la disolución, aumentando la concentración de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo en la disolución o añadiendo a la disolución un anti-disolvente (es decir, un disolvente en el que la sal es insoluble). Heptano es un ejemplo de un anti-disolvente.

Puede prepararse base libre de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino añadiendo una disolución acuosa básica a una suspensión orgánica para proporcionar una mezcla que tiene componentes orgánicos y acuosos, en la que la suspensión orgánica comprende un sal (por ejemplo, una sal de hipurato) de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo y un disolvente orgánico; aislando el componente orgánico de la mezcla; y enfriando y/o concentrando el componente orgánico para proporcionar (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino.

Los ejemplos de disolventes orgánicos incluyen éteres. Los ejemplos de disoluciones acuosas básicas incluyen disoluciones acuosas de bicarbonato de sodio.

Métodos de tratamiento

Esta invención abarca compuestos y formas de dosificación farmacéuticas para su uso en un método de inhibición de triptófano hidroxilasa (TPH), que comprende poner en contacto TPH con un compuesto de la invención (es decir, un compuesto dado a conocer en el presente documento). En un método particular, la TPH es la isoforma TPH1. En un método particular, la inhibición es *in vitro*. En otra, la inhibición es *in vivo*.

Esta invención abarca compuestos y formas de dosificación farmacéuticas para su uso en métodos de tratamiento, prevención y gestión de diversas enfermedades y trastornos mediados por serotonina periférica, que comprenden la inhibición de la actividad de TPH1 en un paciente que necesita tal tratamiento, prevención o gestión.

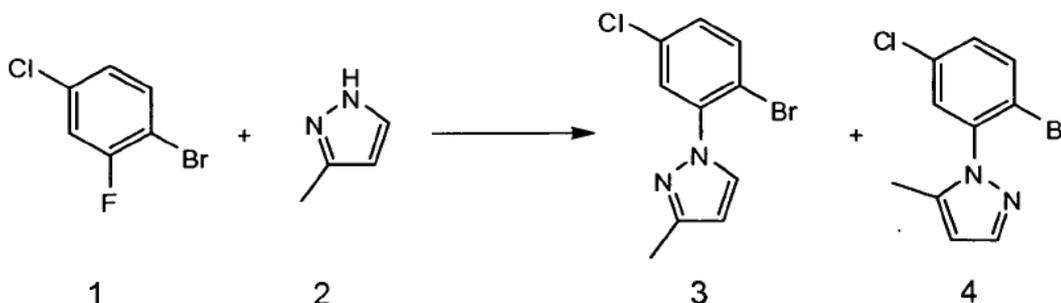
Las enfermedades y trastornos particulares incluyen síndrome carcinoide y enfermedades y trastornos gastrointestinales. Los ejemplos de enfermedades y trastornos específicos incluyen dolor abdominal (por ejemplo, asociado con carcinoma medular de tiroides), ansiedad, síndrome carcinoide, enfermedad celíaca, estreñimiento (por ejemplo, estreñimiento que tiene una causa iatrogénica y estreñimiento idiopático), enfermedad de Crohn, depresión, diabetes, diarrea (por ejemplo, diarrea de ácidos biliares, diarrea secretoria inducida por enterotoxinas, diarrea que tiene una causa iatrogénica, diarrea idiopática (por ejemplo, diarrea secretora idiopática) y diarrea del viajero), vómito, dolor abdominal funcional, dispepsia funcional, síndrome del intestino irritable (SII), intolerancia a la lactosa, síndrome de MEN de tipos I y II, síndrome de Ogilvie, síndrome de cólera pancreático, insuficiencia pancreática, feocromocitoma, esclerodermia, trastorno de somatización y síndrome de Zollinger-Ellison.

Composiciones farmacéuticas

Esta invención abarca formas de dosificación y composiciones farmacéuticas que comprenden la forma sólida de la invención. Las formas de dosificación y composiciones farmacéuticas de esta invención pueden contener opcionalmente uno o más portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables. Determinadas composiciones farmacéuticas son formas de dosificación unitarias individuales adecuadas para administración oral, tópica, mucosa (por ejemplo, nasal, pulmonar, sublingual, vaginal, bucal o rectal), parenteral (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, inyección en bolo, intramuscular o intraarterial) o transdérmica a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a: comprimidos; comprimidos oblongos; cápsulas, tales como cápsulas de gelatina elástica blanda; cápsulas con forma de sello; trociscos; pastillas para chupar; dispersiones; supositorios; pomadas; cataplasmas (emplastos); pastas; polvos; vendajes; cremas; escayolas; disoluciones; parches; aerosoles (por ejemplo, inhaladores o pulverizaciones nasales); geles; formas de dosificación líquidas adecuadas para administración oral o mucosa a un paciente, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite), disoluciones y elixires; formas de dosificación líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente; y sólidos estériles (por ejemplo, sólidos cristalinos o amorfos) que pueden reconstituirse para proporcionar formas de dosificación líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente.

La formulación debe adecuarse al modo de administración. Por ejemplo, la administración oral puede requerir recubrimientos entéricos para proteger el principio activo de la degradación dentro del tracto gastrointestinal. En otro ejemplo, el principio activo puede administrarse en una formulación liposomal para protegerlo de enzimas degradantes, facilitar el transporte en el sistema circulatorio y/o efectuar la administración a través de las membranas celulares a sitios intracelulares.

La composición, la conformación y el tipo de formas de dosificación de la invención variarán normalmente dependiendo de su uso. Por ejemplo, una forma de dosificación usada en el tratamiento agudo de una enfermedad puede contener cantidades mayores de uno o más de los principios activos que comprende que una forma de dosificación usada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. De manera similar, una forma de dosificación parenteral puede contener cantidades menores de uno o más de los principios activos que comprende que una forma de dosificación oral usada para tratar la misma enfermedad. Estas y otras maneras en que variarán entre sí las formas de dosificación específicas abarcadas por esta invención resultarán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª ed., Mack Publishing, Easton Pa. (1990).

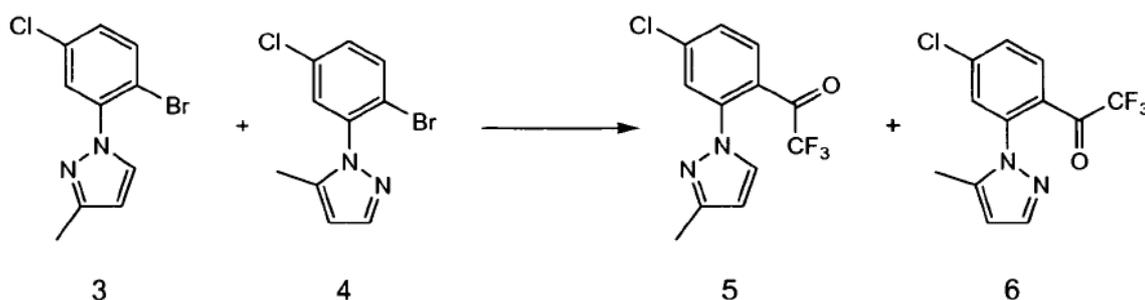
EJEMPLOS**Preparación de 1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetanon**

5
10
15
20

Se cargó un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 3 l equipado con un agitador mecánico, un controlador de temperatura y una entrada de nitrógeno con terc-butóxido de potasio (Aldrich al 95%, 84,6 g, 0,716 mol) y DMSO (400 ml, 4X) a temperatura ambiente y se agitó durante 15 minutos. A esta disolución se le añadió pirazol 2 (59 g, 0,719 mol) seguido por un enjuagado con DMSO (50 ml, 0,5X). Se agitó la disolución turbia de color naranja resultante durante 15 min. y se añadió fluoruro 1 (100 g, 0,477 mol) seguido por un enjuagado con DMSO (50 ml, 0,5X). Entonces se calentó esta mezcla hasta 50°C y se mantuvo durante 5 horas a esta temperatura. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se diluyó la mezcla de reacción con MTBE (750 ml) y se añadió agua (500 ml) dando una mezcla turbia de color marrón. Tras 15 min. de agitación, se separó la fase orgánica y se lavó secuencialmente con HCl 1 N (250 ml), salmuera (250 ml) y agua (250 ml). Se llevó a cabo el ensayo de disolución de la fase orgánica usando CG (conversión > 99%, los rendimientos de disolución de 3 y su regioisómero 4 fueron del 83% y el 17%, respectivamente). Entonces se concentró la disolución de MTBE a vacío hasta dar un volumen total de aproximadamente 200 ml (KF mostró un 0,737% de agua). Se añadió THF (500 ml), se concentró hasta dar una disolución 2X (KF=0,158%). Se repitió la secuencia de adición de THF-concentración dando una disolución 2X (KF=0,023%) que se usó directamente en la siguiente etapa.

25

Se purificaron muestras analíticas de los compuestos 3 y 4 mediante cromatografía en columna y se caracterizaron: Compuesto 3: cristales de color blanco; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,80 (1H, d, J=2,3 Hz), 7,61 (1H, d, J=8,6 Hz), 7,58 (1H, d, J=2,5 Hz), 7,22 (1H, dd, J=8,6, 2,6 Hz), 6,27 (1H, d, J=2,5 Hz), 2,38 (3H, s); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 150,8, 140,6, 134,6, 134,1, 132,0, 129,0, 128,2, 115,4, 107,0, 13,6. Compuesto 4: cristales de color blanco; ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,65 (1H, d, J=8,6 Hz), 7,62 (1H, d, J=1,5 Hz), 7,43 (1H, d, J=2,5 Hz), 7,35 (1H, dd, J=8,6, 2,2 Hz), 6,21 (1H, s), 2,19 (3H, s); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 140,6, 140,2, 140,0, 134,1, 133,9, 130,8, 130,2, 120,7, 105,9, 11,4.



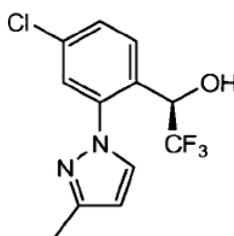
30
35
40
45

Se transfirió la disolución de THF anterior a un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 3 l con camisa equipado con un agitador mecánico, un controlador de temperatura y una entrada de nitrógeno. Tras diluirse con THF (800 ml), se comprobó el contenido en agua en la disolución mediante KF (0,053%). A la disolución anterior se le añadió una disolución de i-PrMgCl en THF (Aldrich 2 M, 286 ml, 0,572 mol) a 0-10°C a lo largo de 1 hora. Se agitó la disolución resultante durante 30 min. a 10°C (la CG mostró la finalización de la reacción de intercambio de magnesio-bromo). Entonces se añadió trifluoroacetato de etilo (74 ml, 0,620 mol) a la disolución de Grignard entre -20 y -10°C a lo largo de 45 minutos, se calentó lentamente hasta 0°C y se agitó durante 30 min. a la misma temperatura. Se vertió la mezcla de reacción en HCl 2 N (300 ml) a 0°C y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se diluyó la fase orgánica con MTBE (500 ml) y se lavó con salmuera (250 ml) seguido por agua (250 ml). Se llevó a cabo el ensayo de disolución de la fase orgánica usando CG (compuesto 5: rendimiento de disolución del 67%, el correspondiente regioisómero 6 estaba presente a aproximadamente el 20% con respecto a 5). Entonces se concentró la disolución a vacío hasta dar una disolución 2X. Para eliminar el agua, se añadió THF (500 ml) y se evaporó hasta dar una disolución 2X. Se repitió la adición de THF-concentración dando una disolución 2X. Se añadió heptano (500 ml), se concentró hasta dar una disolución 2X para intercambiar el disolvente para la

recristalización. Se añadió de nuevo heptano (500 ml), se concentró hasta dar una disolución 3,5X.

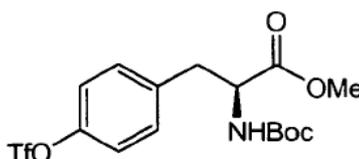
Entonces se transfirió la disolución de heptano 3,5X a un matraz de fondo redondo con camisa de 3 bocas de 1 l equipado con un agitador mecánico, un controlador de temperatura y una entrada de nitrógeno. Se calentó la disolución a 60°C y se enfrió lentamente (1-2 horas) la disolución homogénea resultante hasta temperatura ambiente con agitación, se enfrió adicionalmente hasta 0°C y se agitó durante 30 min. a la misma temperatura. Se recogieron los cristales y se lavaron con heptano enfriado con hielo (200 ml), se secaron a vacío a 50°C proporcionando un sólido de color amarillo pálido (compuesto 5, 85,7 g, puro al 99% mediante CG, rendimiento del 62% a partir de fluoruro 1). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,85 (1H, d, J=2,5 Hz), 7,48 (1H, d, J=1,7 Hz), 7,38 (1H, d, J=8,3 Hz), 7,31 (1H, dd, J=8,1, 1,8 Hz), 6,33 (1H, d, J=2,5 Hz), 2,30 (3H, s); ¹³C-RMN (100 MHz, CDCl₃) δ 184,2 (q, J_{C-F}=36,6 Hz), 151,7, 138,7, 138,5, 130,7, 126,4, 125,7, 124,5, 116,8, 116,1 (q, J_{C-F}=289,8 Hz), 109,7, 13,0; ¹⁹F-RMN (376 MHz, CDCl₃) δ=-76,8 (s).

Preparación de (R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetanol



Se cargó secuencialmente un matraz de fondo redondo con camisa de 3 bocas de 3 l equipado con un agitador mecánico, un controlador de temperatura y una entrada de nitrógeno con dímero de dicloro(pentametilciclopentadienil)iridio (III) ([Cp*IrCl₂]₂, STREM, n.º CAS: 12354-85-7, 34 mg, 0,043 mmol), (1R,2R)-(-)-N-(4-toluenosulfonil)-1,2-difeniletildiamina (STREM, n.º CAS: 144222-34-4, 32 mg, 0,087 mmol) y agua (400 ml, 4X) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla resultante durante 3 horas a 40°C dando una disolución de color naranja homogénea. A esta disolución de catalizador activo se le añadió formiato de potasio (145,5 g, 1,73 mol) y una disolución de la cetona 1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetanol (100 g, pureza > 99% mediante CG, 0,346 mol) en CH₃CN (500 ml, 5X) a 40°C. Entonces se agitó la mezcla de reacción a 40°C durante 2 h, momento en el que se determinó que la reacción se completó mediante CG. Tras enfriar hasta 30°C, se eliminó la fase acuosa (aproximadamente 480 ml). Se trató la fase orgánica (aproximadamente 600 ml, 6X) con carbón activado (Darco G-60, 20 g, 0,2X) a 45°C durante 2 h y se filtró a través de un lecho de 1/4 de pulg. de Celpure P65 (USP-NF, de calidad farmacéutica, Sigma) y se lavó con CH₃CN (200 ml, 2X). Se concentró el filtrado hasta 250 ml (2,5X) y se transfirió a un matraz de fondo redondo con camisa de 3 bocas de 2 l equipado con un agitador mecánico y un controlador de temperatura. Se añadió más CH₃CN (50 ml, 0,5X) para aumentar el volumen de la disolución hasta 300 ml (3X). Se calentó esta disolución hasta 60°C y se añadió agua (500 ml, 5X) a esta disolución a la misma temperatura. Tras agitar durante 15 minutos a 60°C, se enfrió lentamente la mezcla lechosa similar a una emulsión resultante hasta temperatura ambiente. Entonces se filtraron los cristales a temperatura ambiente y se lavaron con CH₃CN/agua (1:2, 150 ml, 1,5X). Se secó la torta húmeda (108 g, KF: 8,83%) a vacío a 45°C durante 4 h proporcionando el alcohol deseado (sólido de color blanco, 95 g, rendimiento del 94%, pureza química > 99%, ee > 99%, KF: 0,014%). ¹H-RMN (metanol-d₄, 400 MHz) δ 2,19 (s, 3H), 5,23 (dd, 6,8 Hz, 7,2 Hz, 1 H), 6,19 (d, 2,4 Hz, 1 H), 7,29 (d, 2 Hz, 1H), 7,42 (dd, 2,0 Hz, 6,4 Hz, 1H), 7,59 (d, 2,4 Hz, 1 H), 7,68 (d, 8,4 Hz, 1 H). ¹³C-RMN (metanol-d₄) δ 13,4, 67,2, 108,3, 121,7, 124,5, 127,4, 130,1, 131,9, 134,1, 136,4, 141,6, 152,3. CL/EM: MH⁺=291.

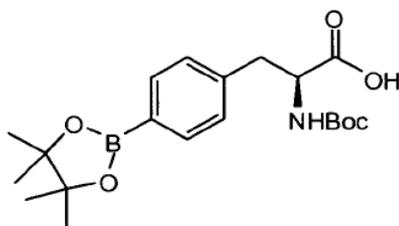
Preparación de (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-(trifluorometilsulfonilo)fenil)propanoato de metilo



Se preparó este compuesto basándose en un procedimiento de la bibliografía (Shieh, *et al.*, J. Org. Chem. 57:379-381 (1992)). A una disolución de Boc-Tyr-OMe (Bachem, California, 100 g, 0,34 mol) y N-metilmorfolina (51 g, 1,5 eq.) en diclorometano (1000 ml) se le añadió anhídrido triflico (100 g, 1,05 eq.) a lo largo de 2 horas a de -5 a -15°C. Se agitó la disolución de color rojo resultante a -10°C durante 10 minutos. El análisis de HPLC mostró la desaparición completa del material de partida. Se extinguió la reacción con ácido cítrico al 10% (500 ml). Se lavó la fase orgánica con ácido cítrico al 10% (500 ml) seguido por agua (500 ml). Se concentró la disolución de color rosa claro resultante a presión reducida hasta 200 ml. Se diluyó esto con acetonitrilo (600 ml) y se concentró

adicionalmente hasta dar una disolución de 200 g. Se usó esta disolución en la siguiente etapa sin purificación adicional. El rendimiento estimado fue del 98% separando una muestra hasta sequedad dando un sólido de color amarillo pálido de bajo punto de fusión. CL-EM (ESI): $MH^+=428,0$, $MNH_4^+=445,0$. 1H -RMN ($CDCl_3$) δ 7,16 (m, 4H), 4,95 (d, $J=7,1$ Hz, 1H), 4,53 (m, 1H), 3,64 (s, 3H), 3,10 (dd, $J_1=5,7$ Hz, $J_2=13,8$ Hz, 1H), 2,97 (dd, $J_1=6,3$ Hz, $J_2=13,6$ Hz, 1H), 1,34 (s, 9H). ^{13}C -RMN ($CDCl_3$) δ 172,3, 155,4, 149,0, 137,4, 131,5, 121,7, 119,1 (q, $J=321$ Hz), 80,54, 54,62, 52,7, 38,3, 28,6. ^{19}F -RMN ($CDCl_3$) δ -73,4.

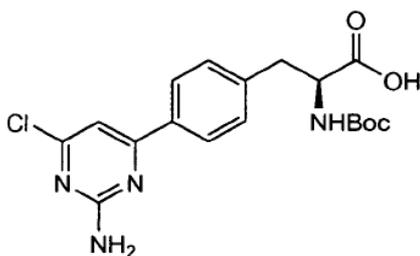
Preparación de ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoico



Se preparó este compuesto basándose en un procedimiento de la bibliografía (Firooznia, *et al.*, Tetrahedron Lett. 40:213-216 (1999)). Se mezclaron bis(pinacolato)diboro (90 g, 1,1 eq.), acetato de potasio (63 g, 2 eq.), triciclohexilfosfina (2,3 g, 2,5% en moles) y acetato de paladio (0,72 g, 1% en moles) en acetonitrilo (950 ml) y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se añadió una disolución de (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-(trifluorometilsulfonyloxi)-fenil)propanoato de metilo (190 g, 0,32 mol) y se calentó la mezcla resultante a 80°C durante 1 hora y se enfrió. La HPLC mostró el consumo completo del material de partida. Se extinguió la mezcla de reacción con una disolución acuosa de bicarbonato de potasio (57 g en 475 ml de agua) y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se filtró la mezcla a través de un lecho de celulosa para eliminar el negro de paladio. Se concentró una muestra de la fase orgánica y se purificó mediante cromatografía en columna (gradiente: acetato de etilo/hexanos de 1:10 a 1:4) dando (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)propanoato de metilo como un aceite transparente. CL-EM (ESI): $MH^+=406,2$, $MNH_4^+=423,2$, $M_2H^+=811,5$, $M_2NH_4^+=428,5$. 1H -RMN ($CDCl_3$) δ 7,76 (d, $J=8,1$ Hz, 2H), 7,15 (d, $J=7,6$ Hz, 2H), 4,96 (d, $J=7,3$ Hz, 1H), 4,60 (m, 1H), 3,72 (s, 3H), 3,13 (m, 2H), 1,44 (s, 9H), 1,36 (s, 12H).

Se agitó la fase orgánica anterior del éster con disolución acuosa de hidróxido de litio (23 g en 500 ml de agua) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se ajustó el pH de la suspensión resultante a aproximadamente 10 con ácido clorhídrico 6 N y se filtró. Se lavó la torta con agua (200 ml). Se eliminó el acetonitrilo del filtrado a presión reducida para dar una suspensión acuosa (950 ml, se añadió agua adicional durante la destilación). Se filtró la suspensión a través de un lecho de celulosa y se lavó con agua (200 ml). Se lavó el filtrado con MTBE (500 ml) y volvió a diluirse con 700 ml de MTBE. Se acidificó la mezcla hasta un pH de aproximadamente 4,5 con ácido clorhídrico 6 N. Se lavó la fase orgánica con agua (500 ml) y se concentró a presión reducida hasta dar el compuesto de ácido como un aceite de color marrón (206 g, rendimiento del 95% basándose en la pureza estimada mediante RMN). Puede usarse directamente el producto bruto en la siguiente etapa. Alternativamente, puede purificarse el compuesto mediante cristalización en MTBE/heptano dando un sólido de color blanco, que contiene una pequeña cantidad del ácido borónico correspondiente, ácido (S)-3-(4-boronofenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico. EM (ESI): $MH^+=392,2$, $MNH_4^+=409,2$, $M_2H^+=783,4$, $M_2NH_4^+=800,4$. 1H -RMN ($CDCl_3$) δ 7,95 (s a, 1H), 7,76 (d, $J=7,8$ Hz, 2H), 7,21 (d, $J=7,6$ Hz, 2H), 5,03 (d, $J=7,8$ Hz, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,18 (m, 2H), 1,43 (s, 9H), 1,35 (s, 12H). ^{13}C -RMN ($CDCl_3$) δ 175,8, 155,7, 139,7, 135,4, 129,2, 84,2, 80,5, 54,5, 38,3, 28,7, 25,2.

Preparación de ácido (S)-3-(4-(2-amino-6-cloropirimidin-4-il)fenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico



A un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 2 l equipado con un agitador mecánico y un controlador de temperatura se le añadió ácido (S)-2-(terc-butoxicarbonilamino)-3-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-

il)fenil)propanoico (30,3 g, 0,078 mol), 2-amino-4,6-dicloropirimidina (38,03 g, 3,0 eq.), catalizador POPd6 (0,605 g, 1,0% en moles, CombiPhos Catalysts, Inc., Nueva Jersey) y etanol (728 ml). A la suspensión con agitación anterior se le añadió entonces una disolución acuosa de bicarbonato de potasio (27,85 g, 3,5 eq., en 173 ml de H₂O) lentamente de modo que el desprendimiento de gas de CO₂ no fue vigoroso. Se calentó esta mezcla a 75°C durante 6 horas, momento en el que el análisis de HPLC mostró una conversión superior al 99% del material de partida. Se eliminó el etanol de la mezcla a presión reducida dando una suspensión acuosa (~200 ml), se añadió H₂O adicional (90 ml) y se concentró la disolución hasta ~250 ml. Se añadió agua (90 ml) a la suspensión, que entonces se filtró y se lavó con agua (60 ml x2). Se extrajo el filtrado con acetato de etilo (150 ml). Se trató la disolución acuosa con Darco-G60 (6,0 g) a 60°C durante 2 h, se filtró a través de Celite (Celpure 300, 10 g) y se diluyó con THF (240 ml) y tolueno (180 ml). Se añadió lentamente a la mezcla HCl 6 N a temperatura ambiente hasta que el pH alcanzó 4,0. Se separó la fase orgánica y se lavó con agua (180 ml) y se añadió Darco-G60 (6,0 g): se calentó la mezcla resultante a 60°C durante 2 horas. Se enfrió la disolución hasta temperatura ambiente y se filtró a través de Celite (Celpure 300, 10 g). Se lavó la torta con THF (30 ml x2). Se concentró la disolución resultante a vacío hasta ~180 ml de volumen global, punto en el que precipitó el producto de la disolución. Entonces se enfrió la suspensión hasta temperatura ambiente, se filtró y se lavó la torta mediante tolueno (30 ml x2). Se secó en horno el sólido a vacío a 50°C durante la noche dando 24,0 g de producto como un sólido de color amarillo claro que mediante ¹H-RMN contenía ~8,0% en peso de tolueno en un rendimiento del 75% (corregido). La HPLC mostró una pureza del 91% con un 9,0% de impureza de diácido.

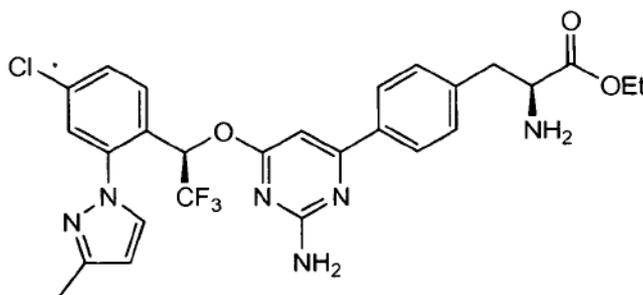
Procedimiento alternativo para la preparación de ácido (S)-3-(4-(2-amino-6-cloropirimidin-4-il)fenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico a partir de ácido (S)-2-amino-3-(4-boronofenil)propanoico usando carbonato de potasio como base

Se mezclaron ácido (S)-2-amino-3-(4-boronofenil)propanoico (Ryscor Science, Inc., Carolina del Norte, 1,0 g, 4,8 mmol) y carbonato de potasio (1,32 g, 2 eq.) en etanol acuoso (15 ml de etanol y 8 ml de agua). Se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (1,25 g, 1,2 eq.) en una porción. Tras 30 min. de agitación a temperatura ambiente, el análisis de HPLC mostró el consumo completo del compuesto de partida y la formación de ácido (S)-3-(4-boronofenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico. Se añadieron la 2-amino-4,6-dicloropirimidina (1,18 g, 1,5 eq.) y el catalizador dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (34 mg, 1% en moles) y se calentó la mezcla resultante a 65-70°C durante 3 horas. El análisis de HPLC mostró el consumo completo del producto intermedio, ácido (S)-3-(4-boronofenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico. Tras la concentración y filtración, el análisis de HPLC de la disolución acuosa resultante frente a una disolución patrón del compuesto del título mostró 1,26 g (rendimiento del 67%).

Procedimiento alternativo para la preparación de ácido (S)-3-(4-(2-amino-6-cloropirimidin-4-il)fenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico a partir de ácido (S)-2-amino-3-(4-boronofenil)propanoico usando como base carbonato de potasio/bicarbonato de potasio

Se mezclaron ácido (S)-2-amino-3-(4-boronofenil)propanoico (10 g, 48 mmol) y bicarbonato de potasio (14,4 g, 3 eq.) en etanol acuoso (250 ml de etanol y 50 ml de agua). Se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (12,5 g, 1,2 eq.) en una porción. El análisis de HPLC indicó que la reacción no se completó tras la agitación durante la noche a temperatura ambiente. Se añadieron carbonato de potasio (6,6 g, 1,0 eq.) y dicarbonato de di-terc-butilo adicional (3,1 g, 0,3 eq.). Tras 2,5 horas de agitación a temperatura ambiente, el análisis de HPLC mostró el consumo completo del compuesto de partida y la formación de ácido (S)-3-(4-boronofenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico. Se añadieron la 2-amino-4,6-dicloropirimidina (11,8 g, 1,5 eq.) y el catalizador dicloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio (II) (0,34 g, 1% en moles) y se calentó la mezcla resultante a 75-80°C durante 2 horas. El análisis de HPLC mostró el consumo completo del producto intermedio, ácido (S)-3-(4-boronofenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico. Se concentró la mezcla a presión reducida y se filtró. Se lavó el filtrado con acetato de etilo (200 ml) y se diluyó con THF/MTBE 3:1 (120 ml). Se acidificó esta mezcla hasta un pH de aproximadamente 2,4 mediante ácido clorhídrico 6 N. Se lavó la fase orgánica con salmuera y se concentró a presión reducida. Se precipitó el residuo en isopropanol, se filtró y se secó a 50°C a vacío dando el compuesto del título como un sólido de color blanquecino (9,0 g, rendimiento del 48%). Pureza: 92,9% mediante análisis de HPLC. La concentración de las aguas madre produjo 2,2 g adicionales de polvo de color blanquecino (rendimiento del 12%). Pureza: 93,6% mediante análisis de HPLC.

Preparación de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo



Se cargó un matraz de fondo redondo de 3 bocas de 500 ml equipado con un agitador mecánico, un controlador de temperatura y un condensador con el monoclóruo de ácido (S)-3-(4-(2-amino-6-cloropirimidin-4-il)fenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico (20,0 g, 51 mmol), (R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetano (ee > 99%, 16,3 g, 56 mmol, 1,1 equiv.), Cs₂CO₃ (24,9 g, 76 mmol, 1,5 equiv.) y 1,4-dioxano anhidro (150 ml, 7,5X, KF=0,003%). Se agitó la mezcla bajo nitrógeno y se aumentó la temperatura hasta 100°C con buena agitación. Se agitó la mezcla de reacción a 100°C durante 1 hora y se añadió Cs₂CO₃ adicional (33,2 g, 102 mmol, 2,0 equiv.). Entonces se agitó la mezcla de reacción durante 18 horas a 100°C. Se enfrió la mezcla de reacción heterogénea hasta 90°C y se añadió agua (150 ml, 7,5X) con buena agitación. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente.

A la disolución bifásica se le añadió dicarbonato de di-terc-butilo (1,11 g, 5,1 mmol, 0,1 equiv.) a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h a la misma temperatura. Se añadió tolueno (100 ml, 5X), se agitó la mezcla resultante durante 15 min. a temperatura ambiente y se dividieron las fases. Se añadió agua (100 ml, 5X) a la fase orgánica y se agitó la mezcla resultante durante 15 min. a temperatura ambiente y se dividieron las fases. Entonces se acidificó la fase acuosa (pH=10,5) hasta pH 7-6 usando HCl 6 N a temperatura ambiente. Se añadió EtOAc (100 ml, 5X) a esta mezcla y se llevó a cabo acidificación adicional hasta pH 4 usando HCl 6 N a temperatura ambiente con buena agitación. Tras dividir la fase orgánica, se extrajo la fase acuosa con EtOAc (100 ml, 5X). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera (100 ml, 5X). Entonces se concentró la fase de EtOAc a vacío hasta dar un volumen total de aproximadamente 40 ml (2X). Se añadió EtOH (100 ml, 5X) y se concentró hasta dar una disolución 2X. Se repitió la secuencia de adición de EtOH (150 ml, 7,5X)-concentración dando una disolución 2X de ácido (S)-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1-H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico, que se usó directamente en la siguiente etapa química. El ensayo de disolución mostró que el rendimiento fue de aproximadamente el 75% a partir de ácido (S)-3-(4-(2-amino-6-cloropirimidin-4-il)fenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoico suponiendo que la pureza del compuesto era del 100%. Se obtuvo ácido Boc analíticamente puro mediante cromatografía en columna y se caracterizó: ¹H-RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,30 (s, 9H), 2,34 (s, 3H), 2,86 (dd, 1H), 3,07 (dd, 1H), 4,14 (m, 1H), 6,45 (d, 1H), 6,83 (s, 1H), 7,29 (dd, 1H), 7,33 (d, 2H), 7,61 (dd, 1H), 7,75 (d, 1H), 7,99 (d, 2H), 8,21 (d, 1H), 12,5-12,8 (s a, 1H). ¹³C-RMN (DMSO-d₆) δ 13,99, 13,89, 22,05, 27,78, 28,08, 28,32, 31,21, 36,22, 54,83, 67,41, 67,73, 78,03, 91,15, 107,69, 124,99, 125,18, 126,59, 128,12, 129,30, 130,23, 132,69, 134,65, 135,08, 140,73, 140,89, 150,41, 155,39, 162,76, 166,17, 168,22, 173,40. Anal. calc. para C₃₀H₃₀ClF₃N₆O₅: C, 55,69; horas, 4,67; N, 12,99. Encontrado: C, 55,65; horas, 4,56; N, 12,74.

Se diluyó la disolución 2X anterior con EtOH (60 ml, 3X) y CH₃CN (100 ml, 5X) a temperatura ambiente. Se añadieron TBTU (puro al 97%, Fluka, 19,7 g, 61 mmol, 1,2 equiv.) y N-metilmorfolina (6,17 ml, 56 mmol, 1,1 equiv.) a esta disolución (KF=0,034%) bajo nitrógeno. Se agitó la disolución resultante a temperatura ambiente durante 4 horas. La HPLC indicó que el ácido Boc se convirtió en el éster Boc (S)-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)-2-(terc-butoxicarbonilamino)propanoato de etilo cuantitativamente. Se concentró la mezcla de reacción hasta aproximadamente 2X a presión reducida (temperatura del baño de 40°C, 100 mbar) y se diluyó con EtOAc (100 ml, 5X) y agua (100 ml, 5X). Se lavó la fase orgánica con KHCO₃ ac. saturado (pH ~8,5) (2X100 ml, 5X) y salmuera (50 ml, 2,5X). Entonces se trató esta fase orgánica de color rojo con carbón activado (Darco G-60, 8 g, 0,4X) a 50°C durante 1,5 horas y se filtró a través de lecho de 1/4 de pulg. de Celpure P65 (USP-NF, de calidad farmacéutica, Sigma) y se lavó la torta con CH₃CN (100 ml, 5X). Se concentró el filtrado de color amarillo resultante hasta dar una disolución 2X. Se añadió CH₃CN (100 ml, 5X) y se concentró la disolución hasta dar una disolución 2X. Se repitió la secuencia de adición de CH₃CN-concentración dando una disolución en CH₃CN 2X del éster Boc que se usó directamente en la siguiente etapa. Se obtuvo un éster Boc analíticamente puro mediante cromatografía en columna y se caracterizó: ¹H-RMN (DMSO-d₆, 300 MHz) δ 1,11 (t, J=7,06 Hz, 3H), 1,31 (s, 9H), 2,34 (s, 3H), 2,85-3,08 (m, 2H), 4,1-4,2 (m, 1H), 6,45 (d, J=2,29 Hz, 1 H), 6,84 (s, 1H), 7,25-7,41 (m, 3 H), 7,66 (dd, J=8,58,2,10 Hz, 1 H) 7,71 (d, J=2,1 Hz, 1 H) 7,80 (d, J=8,58 Hz, 1 H) 8,0 (d, J=8,39 Hz, 2 H) 8,21 (d, J=2,29 Hz, 1 H). ¹³C-RMN (DMSO-d₆) δ 13,2, 14,0, 22,1, 24,7, 27,7, 28,0, 28,3, 28,4, 31,2, 33,9, 34,1, 36,2, 36,6, 55,0, 56,3, 60,4, 67,1, 67,4, 67,7, 68,0, 78,2, 78,5, 91,1, 107,7, 122,1, 125,0, 125,2, 126,6, 127,7, 128,1, 129,3, 130,2, 132,7, 134,7, 135,1, 140,4, 140,7, 150,4, 154,2, 155,3, 162,8, 166,1, 168,2, 171,9. Anal. calc. para C₃₂H₃₄ClF₃N₆O₅: C, 56,93; horas, 5,08; N, 12,45. Encontrado: C, 57,20; horas, 4,86; N, 12,21

Se diluyó la disolución 2X anterior con CH₃CN adicional (160 ml, 8X) a temperatura ambiente. Se añadió ácido

metanosulfónico (18,4 ml, 255 mmol) a esta disolución (KF=0,005%) a temperatura ambiente y se agitó a 45°C durante 1 hora, momento en el que la HPLC indicó que se completó la reacción de de-Boc. Se concentró la mezcla de reacción hasta 2X, se enfrió hasta 0-5°C y se diluyó con agua enfriada con hielo (100 ml, 5X) y se lavó esta disolución acuosa con acetato de isopropilo frío dos veces (IPAc, 100 ml, 5X y 50 ml, 2,5X). Entonces se basificó la fase acuosa hasta pH=6 con Na₂CO₃ ac. al 20% a 5°C con agitación. Se añadió IPAc (100 ml, 5X) a esta mezcla y se llevó a cabo una basificación adicional hasta pH 8,5 usando Na₂CO₃ ac. al 20% a temperatura ambiente con buena agitación. Tras dividir la fase orgánica, se extrajo la fase acuosa con IPAc (50 ml, 2,5X). Se concentraron las fases orgánicas turbias combinadas hasta dar una disolución 2X. Se añadió IPAc (100 ml, 5X) y se concentró la mezcla hasta dar una disolución 2X que contenía sales inorgánicas. Se filtró la mezcla y se lavaron los sólidos con IPAc (100 ml, 5X) y se concentró el filtrado hasta dar una disolución 2X. El ensayo de HPLC de esta disolución de IPAc transparente mostró 20,8 g del compuesto del título (36 mmol, > 99% son mediante HPLC, rendimiento de disolución del 71%).

Se obtuvo el compuesto del título analíticamente puro mediante cromatografía en columna y se caracterizó: ¹H-RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 1,15 (t, J=7,07 Hz, 3H), 2,39 (s, 3H), 2,50 (m, 2H), 3,63 (t, J=6,82 Hz, 1H), 4,07 (q, J=7,07, 14,5 Hz, 2H), 6,50 (d, J=2,27 Hz, 2H), 6,87 (s, 1H), 7,33 (m, 3H), 7,65 (dd, J=8,59, 2,27 Hz, 1H), 7,71 (d, J=2,27 Hz, 1H), 7,81 (d, J=8,59 Hz, 1H) 8,01 (d, J=8,08 Hz, 2H), 8,26 (d, J=2,27 Hz, 1H). ¹³C-RMN (DMSO-d₆) δ 13,4, 13,9, 18,5, 21,0, 21,5, 25,4, 55,6, 56,0, 59,9, 66,9, 67,1, 67,4, 67,7, 68,0, 91,1, 107,7, 122,1, 124,9, 125,0, 125,2, 126,5, 127,7, 128,1, 129,4, 130,2, 132,7, 134,6, 135,1, 140,7, 140,9, 150,4, 162,8, 166,2, 168,2, 174,8. Anal. calc. para C₂₇H₂₆ClF₃N₆O₃: C, 56,40; horas, 4,56; N, 14,62. Encontrado: C, 56,51; horas, 4,52; N, 14,51.

Preparación de hipurato de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo

Se añadió la disolución en IPAc 2X de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo a una suspensión diluida de ácido hipúrico (6,49 g, 36 mol, 1,0 equiv.) en IPAc (208 ml, 10X) y EtOH (42 ml, 2X) a 60°C. Entonces se enfrió la disolución de color amarillo transparente hasta 50°C, momento en el que se añadió simiente y se agitó durante 1 h a la misma temperatura. Entonces se enfrió lentamente la suspensión hasta temperatura ambiente y se agitó durante 14 h a temperatura ambiente. Se filtraron los sólidos, se lavaron con IPAc enfriado con hielo (0-5°C., 42 ml, 2X) y se secaron a vacío a 50°C durante la noche proporcionando un sólido de color blanco (19,0 g, rendimiento del 69%). P.f.: 145°C (temperatura de comienzo de DSC)

Preparación de base libre de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino

Se suspendió un total de 35,79 g de sal de hipurato en 350 ml de metil terc-butil éter. Se ajustó el pH de esta suspensión con agitación hasta pH 9,6 añadiendo 125 ml de carbonato de sodio ac. al 10% p/v. Tras 1,5 horas, se separó mediante extracción la fase orgánica superior y se lavó con 100 ml de salmuera. La concentración de la fase orgánica dio 28,47 g de un aceite vítreo de color amarillo anaranjado pálido que cristalizó en reposo a lo largo de un fin de semana. Se rompieron los sólidos y se trituraron con 400 ml de heptano a aproximadamente 45°C. Tras enfriar hasta temperatura ambiental, se aislaron los cristales suspendidos mediante filtración, se lavaron con heptano y se secaron a vacío a aproximadamente 40°C proporcionando 25,49 g del compuesto del título como un polvo de color blanco cristalino. P.f.: 104°C (temperatura de comienzo de DSC).

Preparación de succinato de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino

Se suspendió (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo (80,2 mg) en 0,2 ml de THF. Se añadió una disolución de ácido succínico en THF (16,4 mg en 0,372 ml de disolución, 1 eq.) a esta disolución mientras se agitaba con un agitador magnético. Se añadió heptano (1,8 ml) gota a gota y se agitó la suspensión resultante durante 1,5 horas. Se añadió heptano adicional (1 ml) y se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante la noche (19,5 horas). Se aisló el sólido de color blanco mediante centrifugación con filtro (15000 rpm, 5 minutos, membrana de PVDF de 0,22 µm).

REIVINDICACIONES

1. (S)-2-Amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. Compuesto según la reivindicación 1, que es (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino, en el que
- a) el compuesto tiene un punto de fusión de aproximadamente 104°C;
- b) el compuesto tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X con picos a uno o más de aproximadamente 10,7, 12,2, 12,8, 17,7 y/o 22,0 grados 2θ; o
- c) el compuesto tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que es sustancialmente el mismo que el mostrado en la figura 1.
3. Sal cristalina de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo.
4. Sal cristalina según la reivindicación 3, que es una sal de hipurato, en la que:
- a) la sal cristalina tiene un punto de fusión de aproximadamente 145°C;
- b) la sal cristalina tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos a uno o más de aproximadamente 8,2, 9,5, 12,6, 16,9, 21,8, 22,0, 22,7, 24,3 y/o 29,1 grados 2θ;
- c) la sal cristalina tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que es sustancialmente el mismo que el mostrado en la figura 2; o
- d) la sal cristalina tiene un espectro de Raman que es sustancialmente el mismo que el mostrado en la figura 3.
5. Sal cristalina según la reivindicación 3, que es una sal de succinato, en la que:
- a) la sal cristalina tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende picos a uno o más de aproximadamente 7,7, 11,5, 11,7, 15,7, 17,9, 21,1 y/o 23,2 grados 2θ, o
- b) la sal cristalina tiene un patrón de difracción de polvo de rayos X que es sustancialmente el mismo que el mostrado en la figura 4.
6. Método de preparación de una sal cristalina de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo, que comprende:
- poner en contacto una disolución que comprende (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo con un ácido farmacéuticamente aceptable en condiciones suficientes para proporcionar una sal de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo;
- reducir la solubilidad de la sal en la disolución en condiciones suficientes para proporcionar una sal cristalina de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo; y
- aislar la sal cristalina.
7. Método según la reivindicación 6, en el que:
- a) la disolución comprende acetato de isopropilo, acetato de etilo, etanol, isopropanol, metil t-butil éter o metil isobutilcetona;
- b) el ácido es ácido hipúrico o succínico.
- c) la solubilidad de la sal se reduce enfriando la disolución.
- d) la cantidad de la sal disuelta se reduce aumentando la concentración de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo en la disolución; o

e) la solubilidad de la sal se reduce añadiendo a la disolución un anti-disolvente.

5 8. Método de preparación de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino, que comprende:

añadir una disolución acuosa básica a una suspensión orgánica para proporcionar una mezcla que tiene componentes orgánicos y acuosos, en la que la suspensión orgánica comprende una sal de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo y un disolvente orgánico;

10

aislar el componente orgánico de la mezcla; y

enfriar y/o concentrar el componente orgánico para proporcionar (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino; y

15

aislar la base libre cristalina.

9. Método según la reivindicación 8, en el que la sal de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo es una sal de hipurato; y en el que:

20

a) el disolvente orgánico es un éter;

25 b) la disolución acuosa básica comprende bicarbonato de sodio; o

c) el método comprende además lavar el (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino con un disolvente orgánico.

30 10. Forma de dosificación farmacéutica que comprende (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino o una sal cristalina de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo.

35 11. Forma de dosificación farmacéutica según la reivindicación 10, en la que la sal cristalina de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo es una sal de hipurato o succinato.

40 12. Cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento.

45 13. Cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento para tratar, prevenir o gestionar el síndrome carcinoide.

50 14. Cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento para tratar, prevenir o gestionar una enfermedad o trastorno gastrointestinal.

55 15. Cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de (S)-2-amino-3-(4-(2-amino-6-((R)-1-(4-cloro-2-(3-metil-1H-pirazol-1-il)fenil)-2,2,2-trifluoroetoxi)pirimidin-4-il)fenil)propanoato de etilo cristalino o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento para tratar, prevenir o gestionar el síndrome del intestino irritable.

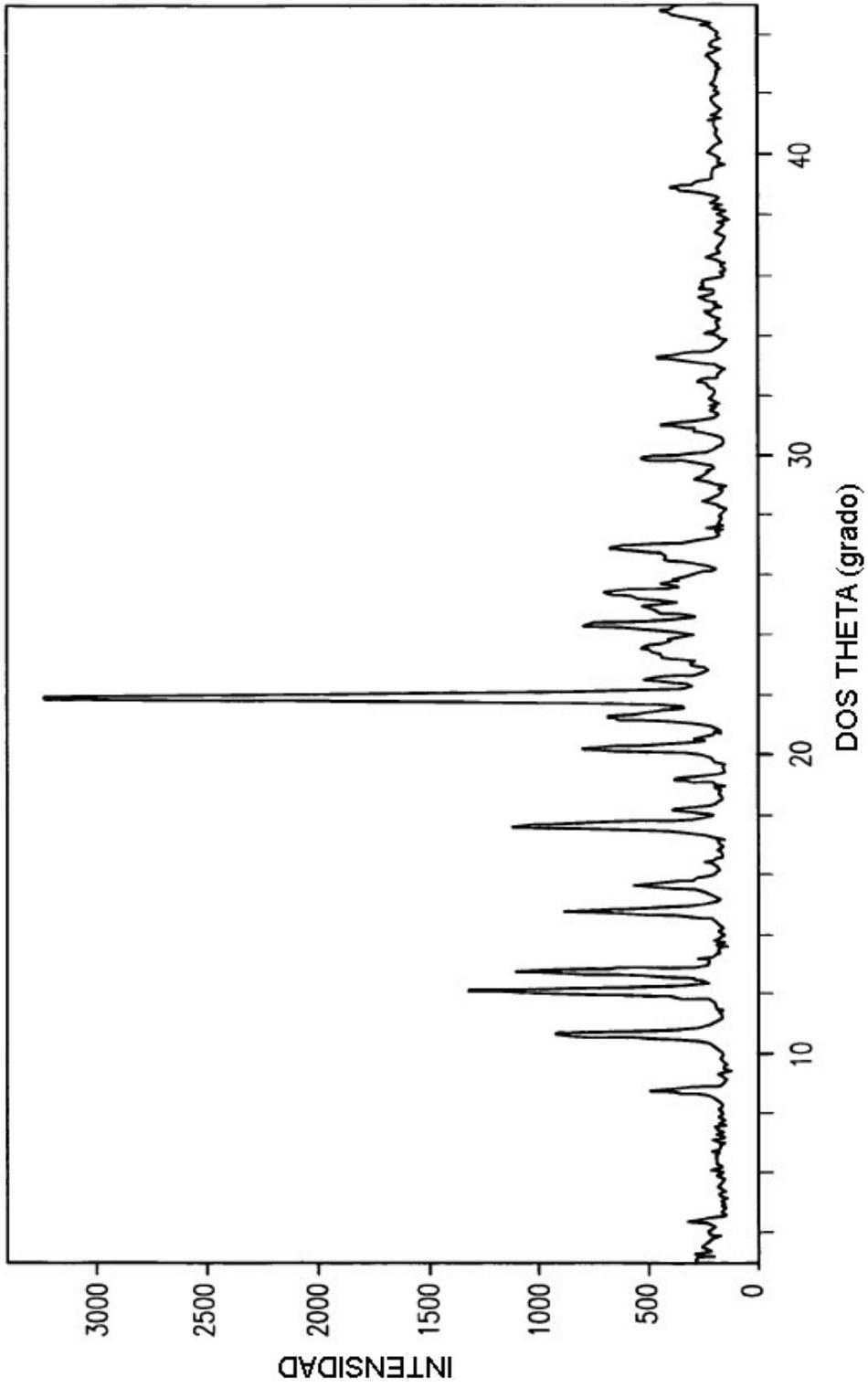


FIG. 1

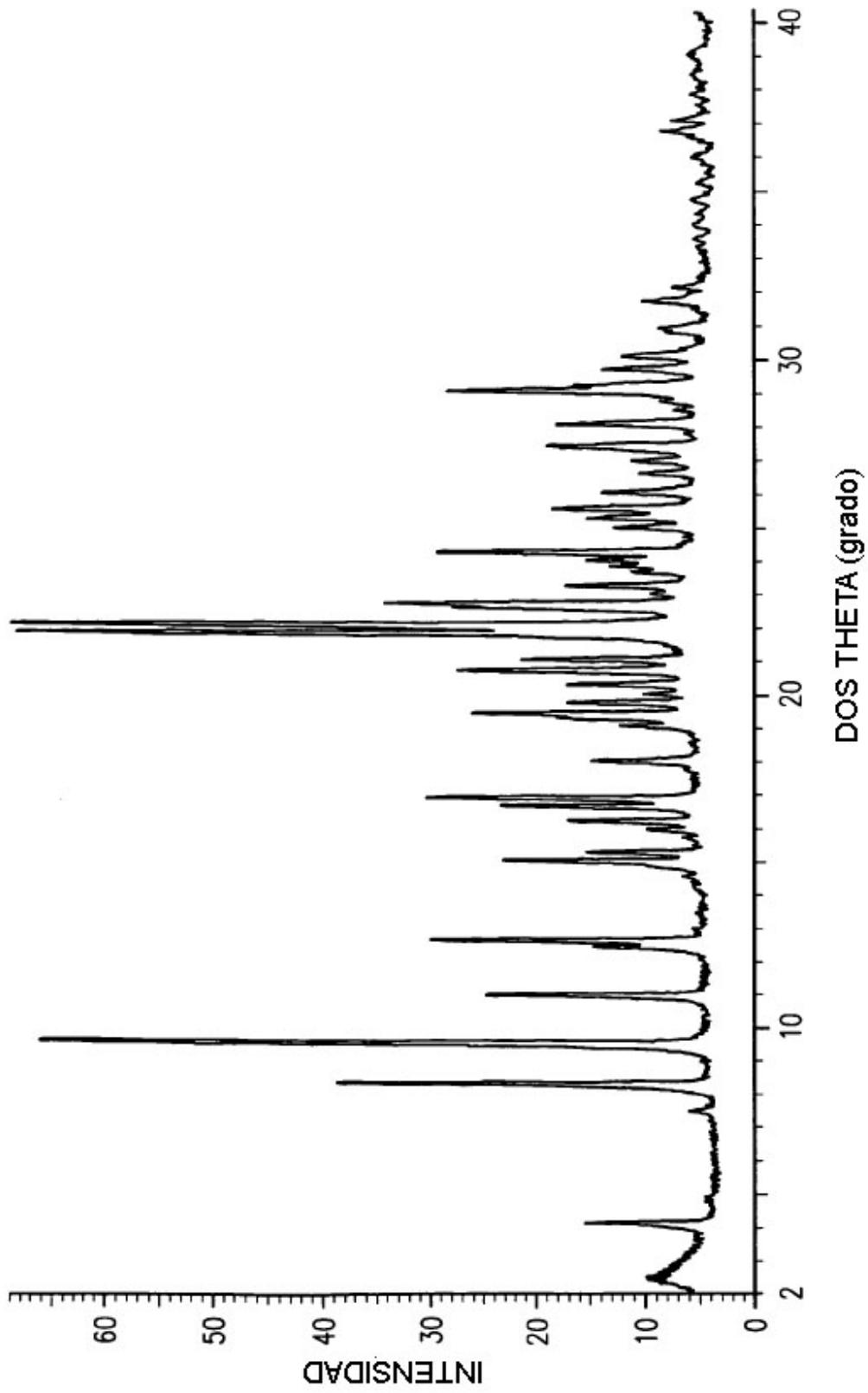


FIG. 2

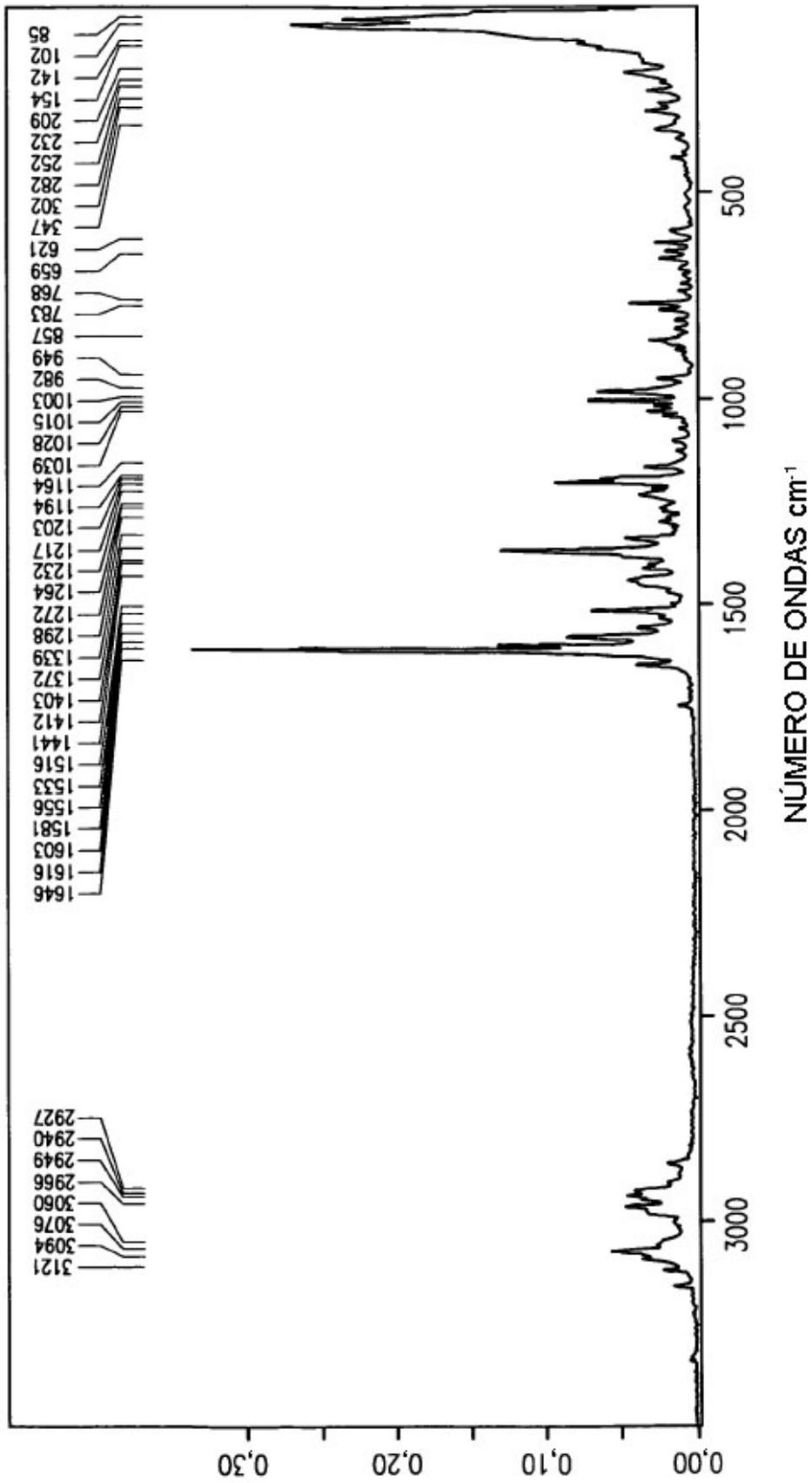


FIG. 3

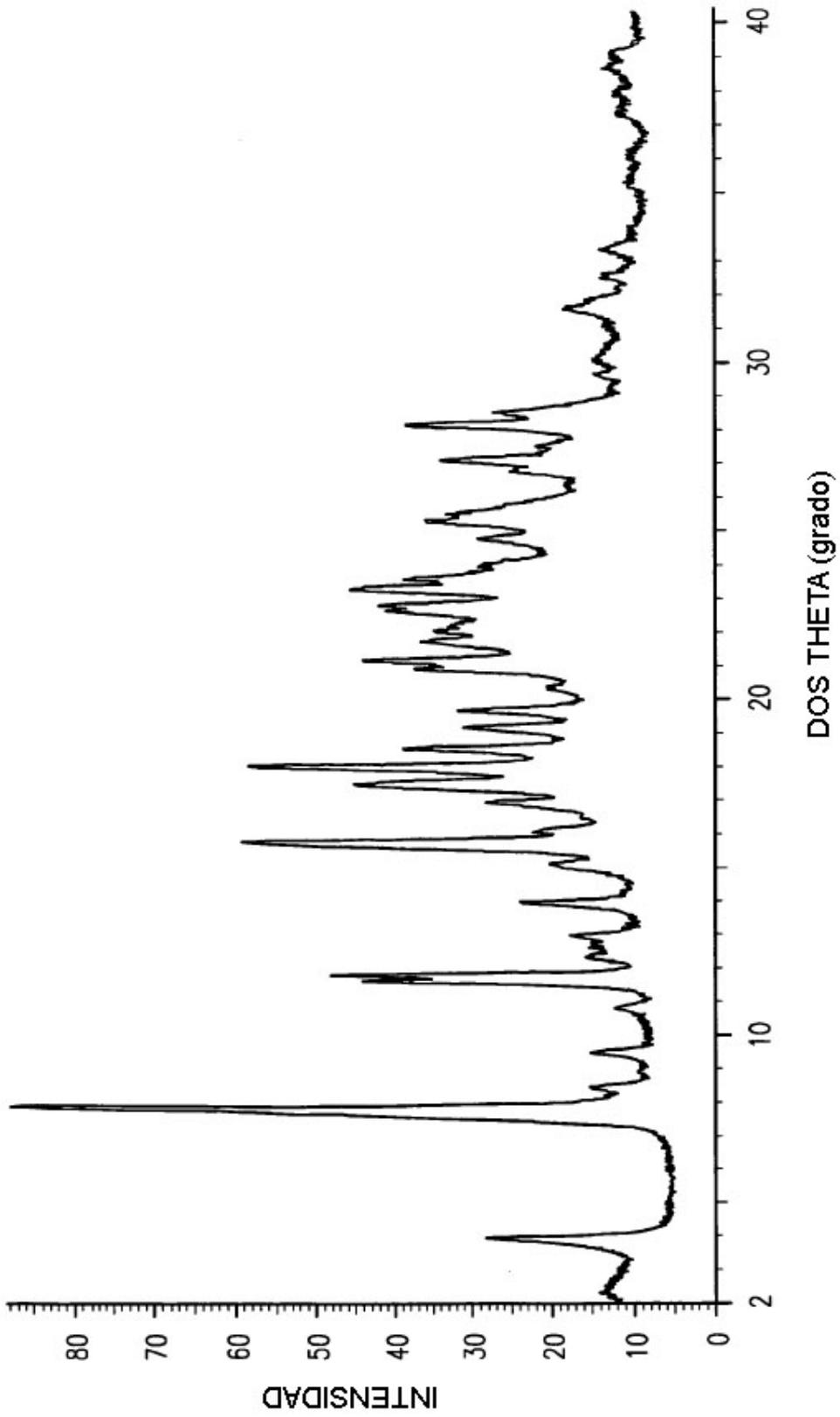


FIG. 4