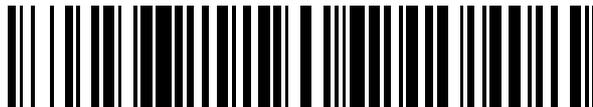


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 457 593**

51 Int. Cl.:

C07F 5/02 (2006.01)

C07F 5/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.03.2005 E 11167264 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.01.2014 EP 2377869**

54 Título: **Síntesis de bortezomib**

30 Prioridad:

30.03.2004 US 557535 P

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

28.04.2014

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**PICKERSGILL, I. FRASER;
BISHOP, JOHN;
AMMOSCATO, VINCE;
MUNK, STEPHEN;
LO, YOUNG;
CHIU, FANG-TING y
KULKARNI, VITHALANAND R.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 457 593 T3

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

DESCRIPCIÓN

Síntesis de bortezomib.

5 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Campo de la Invención

10 Esta invención se refiere a la síntesis de compuestos borónicos ésteres y ácidos. Más particularmente, la invención se refiere a procesos de síntesis en gran escala para la preparación de compuestos borónicos ésteres y ácidos por transposición promovida por ácidos de Lewis de complejos boron-"ato".

Antecedentes de la Invención

15 Los compuestos borónicos ácidos y ésteres exhiben una diversidad de actividades biológicas farmacéuticamente útiles. Shenvi et al., Patente U.S. No. 4.499.082 (1985), describe que los ácidos borónicos peptídicos son inhibidores de ciertas enzimas proteolíticas. Kettner y Shenvi, Patente U.S. No. 5.187.157 (1993), Patente U.S. No. 5.242.904 (1993), and Patente U.S. No. 5.250.720 (1993), describen una clase de ácidos borónicos peptídicos que inhiben proteasas semejantes a la tripsina. Kleeman, et al., Patente U.S. No. 5.169.841 (1992), describe ácidos borónicos peptídicos modificados en el terminal N que inhiben la acción de la renina. Kinder et al., Patente U.S. No. 5.106.948 (1992), describe que ciertos compuestos de ácido borónico tripeptídicos inhiben el crecimiento de las células del cáncer.

25 Más recientemente, los compuestos ácidos y ésteres borónicos han resultado particularmente prometedores como inhibidores del proteasoma, una proteasa multicatalítica responsable de la renovación de la mayoría de las proteínas intracelulares. Ciechanover, Cell, 79: 13-21 (1994), describe que el proteasoma es el componente proteolítico del camino ubiquitina-proteasoma, en el cual las proteínas son direccionadas para degradación por conjugación a moléculas múltiples de ubiquitina. Ciechanover describe también que el camino ubiquitina-proteasoma juega un papel fundamental en una diversidad de procesos fisiológicos importantes.

30 Adams et al., Patente U.S. No. 5.780.454 (1998), Patente U.S. No. 6.066.730 (2000), Patente U.S. No. 6.083.903 (2000), Patente U.S. No. 6.297.217 (2001), Patente U.S. No. 6.548.668, and Patente U.S. No. 6.617.317 (2003), que se incorporan en esta memoria por referencia en su totalidad, describen compuestos ésteres y ácidos borónicos peptídicos útiles como inhibidores del proteasoma. Las referencias describen también el uso de compuestos ésteres y ácidos borónicos para reducir la tasa de degradación de las proteínas musculares, reducir la actividad de NF-κB en una célula, reducir la tasa de degradación de la proteína p53 en una célula, inhibir la degradación de cíclica en una célula, inhibir el crecimiento en una célula de cáncer, inhibir la presentación de antígeno a una célula, inhibir la adhesión celular dependiente de NF-κB, e inhibir la replicación del HIV.

40 Albanell y Adams, Drugs of the Future 27:1079-1092 (2002), describen que un inhibidor del proteasoma de ácido borónico peptídico de este tipo, bortezomib (ácido *N*-2-pirazinacarbonil-L-fenilalanina-L-leucina borónico), exhibe actividad antitumoral importante en modelos de xenoinjerto de tumores humanos y está siendo sometido a evaluación clínica. Richardson et al., New Engl. J. Med., 348:2609 (2003), informa de los resultados de un estudio en Fase 2 de bortezomib, que muestra su eficacia en el tratamiento del mieloma múltiple recurrente y refractario. Dou y Goldfarb, IDrugs 5:828-834 (2002) describe una síntesis de bortezomib.

50 Los estudios de inhibidores de la proteasa del ácido borónico han avanzado notablemente por el desarrollo de la química para la preparación de compuestos de ácido borónico funcionalizados, particularmente ácidos alfa-halo- y alfa-aminoborónicos. Matteson y Majumdar, J. Am. Chem. Soc., 102:7590 (1980), describen un método para preparación de ésteres alfa-cloroborónicos por homologación de ésteres borónicos, y Matteson y Ray, J. Am. Chem. Soc., 102:7591 (1980), informan que puede conseguirse el control quiral de la reacción de homologación por el uso de ésteres pinanodiol-borónicos. La preparación de ácido alfa-aminoborónico y compuestos éster a partir de los ésteres alfa-cloroborónicos correspondientes ha sido publicada también (Matteson et al., J. Am. Chem. Soc., 0103:5241 (1981); Shenvi, Patente U.S. No. 4.537.773 (1985)).

55 Matteson y Sadhu, Patente U.S. No. 4.525.309 (1985), describen un procedimiento mejorado para la homologación de ésteres borónicos por transposición del complejo intermedio boron-"ato" en presencia de un catalizador ácido de Lewis. Se expone que el ácido de Lewis promueve la reacción de transposición y minimiza la epimerización en el átomo de carbono alfa. Sin embargo, para resultados óptimos se requieren la exclusión rigurosa de agua y el control cuidadoso de la estequiometría del ácido de Lewis. Estas características hacen que la reacción sea difícil de realizar con éxito a escala de producción, y limitan la disponibilidad de compuestos ésteres y ácidos borónicos farmacéuticamente importantes, tales como bortezomib. Así pues, persiste la necesidad en la técnica de resultados mejorados para la producción en gran escala de compuestos ésteres y ácidos borónicos.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La invención es como se define en las reivindicaciones adjuntas.

La presente invención proporciona procesos de síntesis mejorados para la producción en gran escala de compuestos ésteres y ácidos borónicos. Estos procesos ofrecen rendimiento y pureza incrementados, capacidad de producción incrementada, y mayor facilidad de manipulación en comparación con los métodos de la técnica anterior. Particularmente, los procesos descritos en esta memoria son adecuados para producción por lotes en una escala grande, de multi-kilogramos, que está limitada únicamente por el tamaño de las capacidades de fabricación disponibles. Los procesos de la invención son particularmente ventajosos para la síntesis de compuestos ésteres y ácidos borónicos quirales, con inclusión de compuestos ésteres y ácidos alfa-aminoborónicos. Con indiferencia de la escala, los productos deseados se producen con pureza química y estereoquímica muy alta.

La bibliografía de patentes y científica a que se hace referencia en esta memoria establece el conocimiento de que está disponible para quienes poseen experiencia en la técnica. A no ser que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en esta memoria tienen el mismo significado que es entendido comúnmente por una persona con experiencia ordinaria en la técnica a la que se refiere esta invención. Aunque pueden utilizarse en la práctica o las pruebas de la presente invención métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en esta memoria, los métodos y materiales preferidos son los aquí descritos. Las patentes expedidas, solicitudes de patente, y referencias que se citan en esta memoria se incorporan por tanto por referencia con la misma extensión que si se indicara específica e individualmente que cada una se incorpora por referencia. En caso de inconsistencias, prevalecerá la presente descripción, con inclusión de las definiciones. Adicionalmente, los materiales, métodos, y ejemplos son sólo ilustrativos y no deben entenderse como limitantes.

El término "del orden de" se utiliza en esta memoria para significar aproximadamente, en la región de, grosso modo, o en el entorno de. Cuando se utiliza el término "del orden de" en asociación con un intervalo numérico, el mismo modifica dicho intervalo extendiendo los límites por encima y por debajo de los valores numéricos indicados. En general, el término "del orden de" se utiliza en esta memoria para modificar un valor numérico por encima y por debajo del valor indicado con una varianza de 10%.

El término "comprende" se utiliza en esta memoria para significar "incluye, pero sin carácter limitante".

El término "alifático", como se utiliza en esta memoria, significa un hidrocarburo C_{1-12} de cadena lineal, ramificado o cíclico que es totalmente saturado o que contiene una o más unidades de insaturación, pero que no es aromático. Por ejemplo, grupos alifáticos adecuados incluyen grupos alquilo, alqueno y alquino lineales, ramificados o cíclicos sustituidos o insustituidos, e híbridos de los mismos, tales como (cicloalquil)alquilo, (cicloalqueno)alquilo o (cicloalquil)alqueno. En diversas realizaciones, el grupo alifático tiene 1-12, 1-8, 1-6, ó 1-4 carbonos.

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

Para los propósitos de la presente invención, el término "alqueno" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula forma parte de un enlace doble carbono-carbono. Grupos alqueno incluyen, sin limitación, vinilo, 1-propeno, 1-butenilo, 1-pentenilo, y 1-hexeno. Para los propósitos de la presente invención, el término "alquino" se utilizará cuando el átomo de carbono que une el grupo alifático al resto de la molécula forma parte de un enlace triple carbono-carbono. Grupos alquino incluyen, sin limitación, etino, 1-propino, 1-butino, 1-pentino, y 1-hexino.

Los términos "cicloalquilo", "carbociclo", "carbociclo", "carbociclo", o "carbocíclico", utilizados solos o como parte de un resto mayor, significan un sistema cíclico de anillos alifático saturado o parcialmente insaturado que tiene de 3 a aproximadamente 14 miembros, en donde el sistema de anillos alifáticos está sustituido opcionalmente. Grupos cicloalquilo incluyen, sin limitación, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, cicloocteno, y ciclooctadieno. En algunas realizaciones, el cicloalquilo tiene 3-6 carbonos. Los términos "cicloalquilo", "carbociclo", "carbociclo", "carbociclo", o "carbocíclico", incluyen también anillos alifáticos que están condensados con uno o más anillos aromáticos o no aromáticos, tales como decahidronaftilo o tetrahidronaftilo, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo alifático.

Los términos "haloalquilo", "haloalquenilo" y "haloalcoxi" se refieren a un grupo alquilo, alquenilo o alcoxi, según sea el caso, sustituido con uno o más átomos de halógeno. Como se utiliza en esta memoria, el término "halógeno" o "halo" significa F, Cl, Br, o I. A no ser que se indique otra cosa, los términos "alquilo", "alquenilo" y "alcoxi" incluyen grupos haloalquilo, haloalquenilo y haloalcoxi, incluyendo, en particular, aquéllos que tienen 1-5 átomos de flúor.

Los términos "arilo" y "ar-", utilizados solos o como parte de un resto mayor, v.g., "aralquilo", "aralcoxi", o "ariloxialquilo" hacen referencia a un resto aromático C₆₋₁₄ que comprende 1 a 3 anillos aromáticos, que están sustituidos opcionalmente. Con preferencia, el grupo arilo es un grupo arilo C₆₋₁₀. Grupos arilo incluyen, sin limitación, fenilo, naftilo, y antraceno. El término "arilo", como se utiliza en esta memoria, incluye también grupos en los cuales un anillo aromático está condensado con uno o más anillos no aromáticos, tales como indanilo, fenantridinilo, o tetrahidronaftilo, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo aromático. El término "arilo" puede utilizarse intercambiamente con el término "anillo arilo".

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

Los términos "heteroarilo" y "heteroar-", utilizados solos o como parte de un resto mayor, v.g., heteroaralquilo, o "heteroaralcoxi", hacen referencia a grupos que tienen 5 a 14 átomos de anillo, preferiblemente 5, 6, 9, ó 10 átomos de anillo; teniendo 6, 10, ó 14 electrones π compartidos en un sistema cíclico; y que tienen, además de átomos de carbono, de 1 a 4 heteroátomos seleccionados del grupo constituido por N, O, y S. Grupos heteroarilo incluyen, sin limitación, tienilo, furanilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, piridilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, isoindolilo, benzotienilo, benzofuranilo, dibenzofuranilo, indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purinilo, quinolilo, isoquinolilo, cinnolinilo, ftalazinilo, quinoxalinilo, naftiridinilo, pteridinilo, carbazolilo, acridinilo, and fenacinilo.

Los términos "heteroarilo" y "heteroar-", como se utilizan en esta memoria, incluyen también grupos en los cuales un anillo heteroaromático está condensado con uno o más anillos no aromáticos, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo heteroaromático. Ejemplos no limitantes incluyen tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, y pirido[3,4-d]pirimidinilo. El término "heteroarilo" puede utilizarse intercambiamente con el término "anillo heteroarilo" o el término "heteroaromático", cualquiera de cuyos términos incluyen anillos que están sustituidos opcionalmente. El término "heteroaralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heteroarilo, en donde las porciones alquilo y heteroarilo están sustituidas opcionalmente de modo independiente.

Como se utilizan en esta memoria, los términos "heterociclo", "heterociclilo", o "radical heterocíclico" se refieren a un resto heterocíclico monocíclico estable de 5 a 7 miembros o bicíclico de 7 a 10 miembros, que está saturado o parcialmente insaturado, y que tiene, además de átomos de carbono, uno o más, preferiblemente 1 a 4, heteroátomos seleccionados del grupo constituido por N, O, y S, en donde los heteroátomos nitrógeno y azufre están oxidados opcionalmente y los átomos de nitrógeno están cuaternizados opcionalmente. El anillo heterocíclico puede estar unido a su grupo colgante en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable, y cualquiera de los átomos del anillo pueden estar sustituidos opcionalmente. Ejemplos de tales radicales heterocíclicos saturados o parcialmente insaturados incluyen, sin limitación, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotienilo, pirrolidinilo, pirrolidonilo, piperidinilo, piperolinilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, decahidroquinolinilo, oxazolidinilo, piperazinilo, dioxanilo, dioxolanilo, diazepinilo, oxazepinilo, tiazepinilo, y morfolinilo. Los términos "heterociclo", "heterociclilo", y "radical heterocíclico", como se utilizan en esta memoria, incluyen también grupos en los cuales un anillo no aromático que contiene heteroátomos está condensado con uno o más anillos aromáticos o no aromáticos, tales como indolinilo, cromanilo, fenantridinilo o tetrahidroquinolinilo, donde el radical o punto de unión se encuentra en el anillo no aromático que contiene heteroátomo(s). El término "heterociclilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido por un heterociclilo, en donde las porciones alquilo y heterociclilo están sustituidas opcionalmente de modo independiente.

Como se utiliza en esta memoria, el término "parcialmente insaturado" se refiere a un resto de anillo que incluye al menos un enlace doble o triple entre los átomos del anillo. El término "parcialmente insaturado" debe entenderse que abarca anillos que tienen uno o múltiples sitios de insaturación, pero no debe entenderse que incluyen restos arilo o heteroarilo, como se definen en esta memoria.

El término "sustituido", como se utiliza en esta memoria, significa que uno o más átomos de hidrógeno del resto designado están reemplazados, con la condición de que la sustitución da como resultado un compuesto estable o químicamente factible. Un compuesto estable o compuesto químicamente factible es uno en el que la estructura química no se altera sustancialmente cuando se mantiene a una temperatura de 40°C o menos, en ausencia de humedad u otras condiciones químicamente reactivas, durante al menos una semana, o un compuesto que mantiene su integridad durante un tiempo suficiente para ser útil para los procesos de síntesis de la invención. La frase "uno o más sustituyentes", como se utiliza en esta memoria, se refiere a un número de sustituyentes que es

igual a 1 hasta el número máximo de sustituyentes posibles basados en el número de sitios de enlace disponibles, con la condición de que se cumplan las condiciones anteriores de estabilidad y factibilidad química.

5 Un grupo arilo (con inclusión del resto arilo en aralquilo, aralcoxi, ariloxialquilo y análogos) o heteroarilo (con inclusión del resto heteroarilo en heteroaralquilo y heteroarilalcoxi y análogos) puede contener uno o más sustituyentes. Ejemplos de sustituyentes adecuados en el átomo de carbono insaturado de un grupo arilo o heteroarilo incluyen -halo, -NO₂, -CN, -R*, -OR*, -SR°, -N(R⁺)₂, -NR⁺C(O)R*, -NR⁺C(O)N(R⁺)₂, -NR⁺CO₂R°, -O-CO₂R*, -O-C(O)R*, -CO₂R*, -C(O)R*, -C(O)N(R⁺)₂, -OC(O)N(R⁺)₂, -S(O)₂R°, -SO₂N(R⁺)₂, -S(O)R°, y -NR⁺SO₂N(R⁺)₂. Cada R⁺ se selecciona independientemente del grupo constituido por R, -C(O)R, -CO₂R, y -SO₂R, o dos R⁺ en el mismo átomo de nitrógeno, considerados junto con el átomo de nitrógeno, forman un anillo de 5-8 miembros aromático o no aromático, que tienen, además del nitrógeno, 0-2 heteroátomos en el anillo seleccionados de N, O y S. Cada R⁺ es independientemente hidrógeno o un grupo alifático, arilo, heteroarilo, o heterociclilo opcionalmente sustituido. Cada R⁰ es independientemente un grupo alifático o arilo opcionalmente sustituido.

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

20 Como se utiliza en esta memoria, el término "gran escala" hace referencia a una reacción que utiliza al menos aproximadamente 5 moles de al menos un material de partida. Preferiblemente, un proceso en gran escala utiliza al menos aproximadamente 10, 20, 50, ó 100 moles de al menos un material de partida.

25 Los términos "estereoisómero", "enantiómero", "diastereoisómero", "epímero", y "centro quiral", se utilizan en esta memoria de acuerdo con el significado que se da a cada uno en el uso ordinario por quienes poseen una experiencia ordinaria en la técnica. Así, los estereoisómeros son compuestos que tienen la misma conectividad atómica, pero difieren en la configuración espacial de los átomos. Los enantiómeros son estereoisómeros que tienen una relación de imagen especular, es decir, que la configuración estereoquímica en todos los centros quirales correspondientes es opuesta. Los diastereoisómeros son estereoisómeros que tienen más de un centro quiral, que difieren uno de otro en que la configuración estereoquímica de al menos uno, pero no todos, los centros quirales correspondientes es opuesta. Los epímeros son diastereoisómeros que difieren en la configuración estereoquímica en un solo centro quiral.

35 Como se utiliza en esta memoria, el término "ratio de diastereoisómeros" se refiere a la ratio entre diastereoisómeros que difieren en la configuración estereoquímica en un solo centro quiral, con relación a un segundo centro quiral en la misma molécula. A modo de ejemplo, una estructura química con dos centros quirales proporciona cuatro estereoisómeros posibles: R*R, R*S, S*R, S*S, en donde el asterisco denota el centro quiral correspondiente en cada estereoisómero. La ratio de diastereoisómeros para una mezcla de estereoisómeros de este tipo es la ratio de un diastereoisómero y su enantiómero al otro diastereoisómero y su enantiómero = (R*R+S*S): (R*S+S*R).

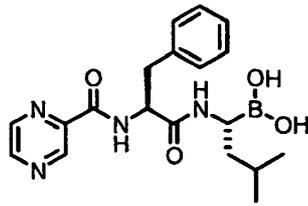
40 Una persona con experiencia ordinaria en la técnica reconocerá que son posibles estereoisómeros adicionales cuando la molécula tiene más de dos centros quirales. Para los propósitos de la presente invención, el término "ratio de diastereoisómeros" tiene significado idéntico con referencia a compuestos que tienen centros quirales múltiples como lo hace con referencia a compuestos que tienen dos centros quirales. Así, el término "ratio de diastereoisómeros" se refiere a la ratio de todos los compuestos que tienen configuración R*R o S*S en los centros quirales especificados a todos los compuestos que tienen configuración R*S o S*R en los centros quirales especificados. Por conveniencia, a dicha ratio se hace referencia en esta memoria como la ratio de diastereoisómeros en el carbono que lleva el asterisco, con relación al segundo centro quiral especificado.

50 La ratio de diastereoisómeros puede medirse por cualquier método analítico adecuado para distinguir entre compuestos diastereoisómeros que tengan configuraciones estereoquímicas relativas diferentes en los centros quirales especificados. Tales métodos incluyen, sin limitación, métodos de resonancia magnética nuclear (NMR), cromatografía de gases (GC), y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

55 Para los propósitos de la invención, el término "pureza enantiomérica" se utiliza con el significado de "exceso enantiomérico", que es la cantidad en la cual el enantiómero mayor se encuentra en exceso respecto al enantiómero menor, expresada como porcentaje del total.

60 Como se utiliza en esta memoria, el término "relación de epímeros" se refiere a la ratio de producto que tiene una configuración estereoquímica absoluta en un centro quiral dado a producto que tiene la configuración estereoquímica absoluta opuesta en el centro quiral correspondiente.

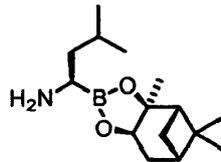
La invención se refiere a un proceso en gran escala para formar un compuesto de fórmula (XIV)



(XIV)

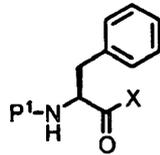
o un anhídrido de ácido borónico del mismo, que comprende los pasos:
 (aa) acoplamiento de un compuesto de fórmula (XVIII):

5



(XVIII)

o una sal de adición de ácido del mismo, con un compuesto de fórmula (XIX):



(XIX)

10

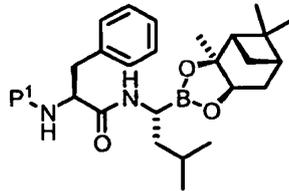
en donde:

P¹ es un resto escindible protector de grupo amino; y

X es OH o un grupo lábil;

15

para formar un compuesto de fórmula (XX):



(XX)

en donde P¹ es como se define arriba, comprendiendo dicho paso de acoplamiento (aa) los pasos:

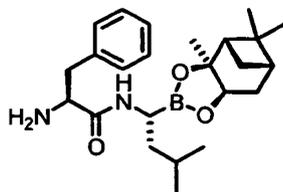
(i) acoplar el compuesto de fórmula (XVIII) con un compuesto de fórmula (XIX), en donde X es OH en presencia de tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TBTU) y una amina terciaria en diclorometano;

(ii) realizar un cambio de disolvente para reemplazar diclorometano con acetato de etilo; y

(iii) realizar un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo;

20

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



(XXI)

25

o una sal de adición de ácido del mismo, comprendiendo dicho paso (bb) de eliminación del grupo protector los pasos:

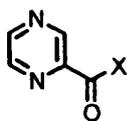
(i) tratar el compuesto de fórmula (XX) con HCl en acetato de etilo;

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

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

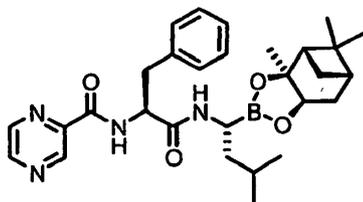
30

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



(XXII)

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



(XXIII),

5

comprendiendo dicho paso de acoplamiento (cc) los pasos:

10

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

(ii) realizar un cambio de disolvente para reemplazar diclorometano con acetato de etilo; y

(iii) realizar un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo; y

(dd) desproteger el resto ácido borónico para formar el compuesto fórmula (XIV) o un anhídrido de ácido borónico del mismo, comprendiendo dicho paso de desprotección (dd) los pasos:

15

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

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

(iii) separar las capas de disolvente; y

20

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

Preferiblemente, el paso (dd)(iii) comprende los pasos:

25

(1) separar las capas de disolvente;

(2) ajustar la capa acuosa a pH básico;

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

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

30

La eficiencia del proceso arriba descrito se mejora ulteriormente por pasos de abreviación, por ejemplo, llevando una mezcla de reacción o solución del producto tratado procedente de una reacción directamente a la reacción siguiente, sin aislamiento del producto intermedio. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el paso (aa) (iii) proporciona una solución en acetato de etilo que comprende un compuesto de fórmula (XX), y la solución en acetato de etilo se somete directamente en el paso (bb) a condiciones eficaces para eliminar el grupo protector P¹. En algunas de tales realizaciones, el grupo protector P¹ es un grupo protector lábil en medio ácido, por ejemplo, *tert*-butoxicarbonilo (Boc), y la solución en acetato de etilo del paso (aa) (iii) se trata con ácido. En ciertas realizaciones preferidas, la solución de acetato de etilo del paso (aa) (iii) se seca azeotrópicamente y se trata luego con HCl gaseoso.

35

40

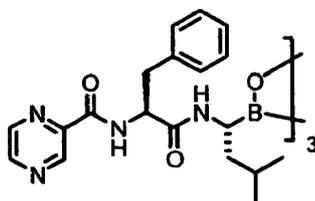
Cuando el paso de desprotección (bb) se realiza en condiciones anhidras, como se ha descrito arriba, el producto de fórmula (XXI) puede aislarse por cristalización de la mezcla de reacción como su sal de adición de HCl. La cristalización del producto salino se promueve por adición de un disolvente hidrocarbonado tal como *n*-heptano. En algunas realizaciones, la mezcla de reacción se concentra parcialmente antes de la adición del disolvente hidrocarbonado. Los autores de la presente invención han descubierto que la cristalización del compuesto de fórmula (XXI) de esta manera elimina eficazmente cualquier impureza tripeptídica que pueda haberse formado durante el paso de acoplamiento (e) o (aa). Tales impurezas son difíciles de eliminar en etapas posteriores de la síntesis.

45

50

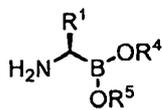
La abreviación ulterior del proceso es posible llevando la mezcla de productos del paso de acoplamiento (cc) directamente al paso de desprotección del resto ácido borónico (dd). Preferiblemente, el disolvente orgánico de la reacción de acoplamiento se reemplaza primeramente con acetato de etilo a fin de facilitar los lavados acuosos. Un segundo intercambio de disolvente en un disolvente hidrocarbonado permite luego que la solución del producto del paso (cc) se utilice directamente en el paso de desprotección de ácido borónico bifásico (dd), sin aislamiento del compuesto de fórmula (XXIII).

En el paso (dd) (iv) del proceso arriba descrito, el compuesto de fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se extrae preferiblemente en acetato de etilo y se cristaliza por adición de hexano o heptano. En algunas realizaciones, el proceso comprende ulteriormente el aislamiento de un anhídrido de ácido borónico del compuesto de fórmula (XIV), preferiblemente un anhídrido trímero de ácido borónico de fórmula (XXIV):

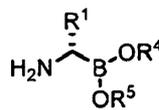


El proceso de la invención permite la fabricación en gran escala de bortezomib de pureza química y estereoquímica muy alta. Los procesos de la técnica anterior estaban limitados en escala y proporcionan un producto de menor pureza global.

Un proceso alternativo, proporcionado para propósitos de referencia, se refiere a un proceso en gran escala para preparación de un compuesto éster alfa-aminoborónico de fórmula (VIIa) o (VIIb):



(VIIa)

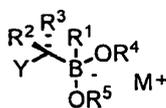


(VIIb)

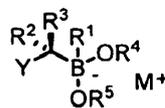
o una sal de adición de ácido de los mismos, en donde:

R¹ es un grupo alifático, aromático, o heteroaromático opcionalmente sustituido; y
R⁴ y R⁵, tomados junto con los átomos de oxígeno y boro interpuestos, forman un éster borónico cíclico quiral opcionalmente sustituido;
comprendiendo dicho proceso:

(a) proporcionar un complejo boron-"ato" de fórmula (IIa) o (IIb):



(IIa)

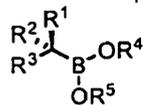


(IIb)

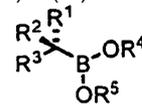
donde

Y es un grupo nucleóforo;
M⁺ es un catión;
R² es hidrógeno;
R³ es un grupo nucleóforo; y
R⁴ y R⁵ son como se define arriba;

(b) poner en contacto el complejo boron-"ato" de fórmula (IIa) o (IIb) con un ácido de Lewis en condiciones que proporcionan un compuesto éster borónico de fórmula (Ia) o (Ib):



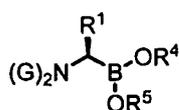
(Ia)



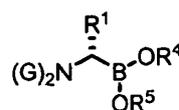
(Ib)

donde cada uno de R¹ a R⁵ es como se define arriba, conduciéndose dicho paso de puesta en contacto en una mezcla de reacción que comprende:

(i) un disolvente de coordinación éter que tiene miscibilidad baja con agua; o
(ii) un disolvente éter que tiene miscibilidad baja con agua y un codisolvente de coordinación; y
(c) tratar el compuesto éster borónico de fórmula (Ia) o (Ib) con un reactivo de fórmula M¹-N(G)₂, donde M¹ es un metal alcalino y G es un resto protector de grupo amino, para formar un compuesto de fórmula (VIIIa) o (VIIIb):



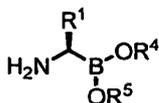
(VIIa)



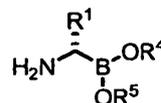
(VIIb)

en donde cada G y R¹ a R⁵ son como se define arriba; y
(d) eliminar los grupos G para formar un compuesto de fórmula (VIIa) o (VIIb):

5



(VIIa)

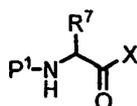


(VIIb)

o una sal de adición de ácido del mismo.

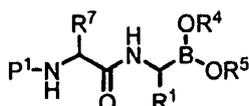
- 10 Valores preferidos para Y, M⁺, R¹ a R⁵; y G son como se describe arriba. El compuesto de fórmula (VIIa) o (VIIb) tiene preferiblemente una ratio de diastereoisómeros en el carbono alfa de al menos aproximadamente 96:4, de modo más preferible al menos aproximadamente 97:3, con relación a un centro quiral en el resto quiral R⁴-R⁵.

- 15 Los compuestos éster alfa-aminoborónicos de fórmula (VII) son compuestos de síntesis intermedios útiles para la preparación de compuestos éster peptidil-borónicos. En algunas realizaciones, por tanto, el proceso alternativo proporcionado para propósitos de referencia comprende adicionalmente acoplar el compuesto de fórmula (VII) con un compuesto de fórmula (IX):



(IX)

- 20 en donde:
 P¹ es un resto bloqueador del grupo amino;
 R⁷ se selecciona del grupo constituido por hidrógeno, C₁₋₁₀ alifático, C₆₋₁₀ arilo opcionalmente sustituido, o C₁₋₆ alifático-R⁸; y
 25 R⁸ se selecciona del grupo constituido por grupos alcoxi, alquiltio, arilo, heteroarilo, y heterocicilo opcionalmente sustituidos, y grupos amino, hidroxilo, y guanidino opcionalmente protegidos; y
 X es OH o un grupo lábil;
 para formar un compuesto de fórmula (X):



(X)

30

en donde cada uno de P¹, R¹, R⁴, R⁵ y R⁷ es como se define arriba.

- 35 El grupo lábil X es cualquier grupo capaz de desplazamiento nucleófilo por el grupo alfa-amino del compuesto de fórmula (VII). En algunas realizaciones, el resto -C(O)-X es un éster activado, tal como un éster O-(N-hidroxisuccinimida). En algunas realizaciones, un éster activado se genera *in situ* por contacto de un compuesto de fórmula (IX), en donde X es OH, con un reactivo de acoplamiento de péptidos. Ejemplos de reactivos adecuados de acoplamiento de péptidos incluyen, sin limitación, reactivos de carbodiimida, v.g., dicitohexilcarbodiimida (DCC), o 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC); reactivos de fosfonio, v.g., hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris-dimetilamino)fosfonio (reactivo BOP); y reactivos de uronio, v.g., tetrafluoroborato de O-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TBTU).

40

- 45 Para los propósitos de la invención, el término "resto bloqueador de grupo amino" hace referencia a cualquier grupo utilizado para derivatizar un grupo amino, especialmente un grupo amino N-terminal de un péptido o aminoácido. El término "resto bloqueador de grupo amino" incluye, pero sin carácter limitante, grupos protectores que se emplean comúnmente en síntesis orgánica, especialmente síntesis de péptidos. Véase, por ejemplo, Gross y OMIenhoffer, eds., *The Peptides*, Vol. 3, Academic Press, Nueva York, 1981, pp. 3-88; Green y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª edición, John Wiley and Sons, Inc., Nueva York, 1999. A no ser que se especifique otra cosa, sin embargo, no es necesario que un resto bloqueador de grupo amino sea fácilmente escindible. Restos

bloqueadores del grupo amino incluyen, v.g., restos alquilo, acilo, alcocarbonilo, aminocarbonilo, y sulfonilo. En algunas realizaciones, el resto bloqueador del grupo amino es un resto acilo derivado de un aminoácido o péptido, o un derivado o análogo de los mismos.

5 Como se utiliza en esta memoria, el término "aminoácido" incluye aminoácidos tanto existentes naturalmente como no naturales. Para los propósitos de la invención, un "derivado" de un aminoácido o péptido es uno en el cual un grupo funcional, v.g. un grupo hidroxilo, amino, carboxi, o guanidino en el término *N* o en una cadena lateral, está modificado con un grupo bloqueador. Como se utiliza en esta memoria, un "análogo" de un aminoácido o péptido es uno que incluye una cadena principal o cadena lateral modificada. El término "análogo peptídico" tiene por objeto
10 incluir péptidos en los cuales uno o más centros estereogénicos están invertidos y uno o más enlaces peptídicos están reemplazados con un isómero peptídico.

P^1 es un grupo protector escindible. Ejemplos de grupos protectores escindibles incluyen, sin limitación, grupos protectores acilo, v.g. formilo, acetilo (Ac), succinilo (Suc), o metoxisuccinilo (MeOSuc), y grupos protectores uretano, v.g., *tert*-butoxicarbonilo (Boc), benciloxycarbonilo (Cbz), o fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc).
15

EJEMPLOS

Abreviaturas

| | |
|---------|--|
| Boc | <i>tert</i> -butoxicarbonilo |
| D.I. | desionizada |
| DMF | <i>N,N</i> -dimetilformamida |
| GC | cromatografía de gases |
| CC-MS | cromatografía de gases-espectrometría de masas |
| h | horas |
| HDPE | polietileno de alta densidad |
| HPLC | cromatografía líquida de alta resolución |
| LDA | diisopropilamido de litio |
| LOB | pérdida por secado |
| min | minutos |
| MTBE | <i>t</i> -butil-metiléter |
| RP-HPLC | cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa |
| RPM | revoluciones por minuto |
| TBTU | tetrafluoroborato de <i>O</i> -benzotriazol-1- <i>il-N,N,N',N'</i> -tetrametiluronio |
| THF | Tetrahidrofurano |

Ejemplo de Referencia 1: Proceso de fabricación de trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato de (1*R*)-(S)-pinanodiol-1-amonio

(1*S*)-(S)-pinanodiol-1-cloro-3-metilbutano-1-boronato

1. Se cargó (S)-pinanodiol-2-metilpropano-1-boronato (12,0 kg, 50,8 moles) en una vasija de reacción mantenida en atmósfera de nitrógeno.
2. Se cargaron *tert*-butil-metiléter (53 kg) y diclorometano (22,5 kg) y la mezcla resultante se enfrió a -57°C con agitación.
30
3. Se cargó diisopropilamina (6,7 kg), en otra vasija de reacción mantenida en atmósfera de nitrógeno.
4. Se añadió *tert*-butil-metiléter (27 kg) a la diisopropilamina y la mezcla resultante se enfrió a -10°C con agitación.
35
5. Se añadió *n*-hexil-litio en hexano (solución al 33,2% en peso) (17,6 kg) a la mezcla de diisopropilamina durante un periodo de 57 minutos, mientras la temperatura de reacción se mantenía entre -10°C y -7°C.
- 40 6. Esta mezcla (mezcla LDA) se agitó durante 33 minutos a -9°C hasta -7°C antes de utilizarse.
7. Se cargó cloruro de cinc (12,1 kg), en una tercera vasija de reacción mantenida en atmósfera de nitrógeno.
- 45 8. Se añadió *tert*-butil-metiléter (16 kg) al cloruro de cinc y la mezcla resultante se calentó a 30°C con agitación.

9. Se añadió tetrahidrofurano (53 kg) a la suspensión de cloruro de cinc durante un periodo de 18 minutos, mientras se mantenía la temperatura de la reacción a 35°C hasta 40°C.
- 5 10. Esta mezcla (mezcla de ZnCl₂) durante 4 horas y 28 minutos entre 38°C y 39°C hasta que se utilizó.
11. La mezcla de LDA (de #3-6) se añadió durante un periodo de 60 minutos a la vasija de reacción que contenía (S)-pinanodiol-2-metilpropano-1-boronato, mientras se mantenía la temperatura de reacción a -60°C hasta -55°C.
- 10 12. Se utilizó un enjuagado con *tert*-butil-metiléter (10 kg) para completar la adición.
13. La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos más a -59°C hasta -55°C.
14. La mezcla de reacción se calentó a -50°C durante un periodo de 11 minutos.
- 15 15. Se añadió la mezcla de ZnCl₂ (de #~7-10) durante un periodo de 48 minutos a la vasija de reacción que contenía (S)-pinanodiol-2-metilpropano-1-boronato y la mezcla de LDA, mientras se mantenía la temperatura de reacción a -50°C hasta -45°C.
- 20 16. Se utilizó un enjuagado con *tert*-butil-metiléter (10 kg) para completar la adición.
17. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos más a -45°C hasta -40°C y se calentó luego a 10°C durante un periodo de 81 minutos.
- 25 18. Se añadió una solución de ácido sulfúrico al 10% (72 kg) durante un periodo de 40 minutos a la vasija de reacción, mientras se mantenía la temperatura de reacción a 10°C hasta 21°C.
19. La mezcla de reacción se agitó durante 16 minutos a la temperatura ambiente, antes de separar la fase acuosa.
- 30 20. La fase orgánica se lavó sucesivamente con agua D.I. (D.I.) (32 kg), y solución de cloruro de sodio (26,7 kg) implicando cada lavado agitación enérgica durante 15 a 17 minutos a la temperatura ambiente.
- 35 21. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida ($p_{\min} = 81$ milibar), manteniendo una temperatura externa (camisa/baño) de 50°C a 55°C, proporcionando un residuo que se disolvió en metilciclohexano (56 kg).
- 40 22. La mezcla de reacción se mantuvo a reflujo (en un condensador de tipo Dean-Stark para separación del agua) a presión reducida ($p_{\min} = 67$ milibar), manteniendo una temperatura externa (camisa/baño) de 50°C a 55°C durante 2 horas y 7 minutos, hasta que no se separó más agua.
23. Se separaron aproximadamente 35 l de los disolventes a presión reducida ($p_{\min} = 81$ milibar), manteniendo una temperatura externa (camisa/baño) de 50°C a 55°C.
- 45 24. La mezcla de metilciclohexano seca que contenía (1S)-(S)-pinanodiol-1-cloro-3-metilbutano-1-boronato se enfrió a 14°C.

(1R)-(S)-Pinanodiol-1-bis(trimetilsilil)amino-3-metilbutano-1-boronato

- 50 1. Se cargó bis(trimetilsilil)amiduro de litio en tetrahidrofurano (solución al 19,4% en peso), (41,8 kg) en una vasija de reacción mantenida en atmósfera de nitrógeno y se enfrió a -19°C con agitación.
2. La mezcla de metilciclohexano que contenía (1S)-(S)-pinanodiol-1-cloro-3-metilbutano-1-boronato se añadió durante un periodo de 55 minutos, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre -19°C y -13°C.
- 55 3. Se utilizó un enjuagado de metilciclohexano (5 kg) para completar la adición.
4. La mezcla de reacción se agitó durante 65 minutos más entre -13°C y -12°C y se calentó luego a 25°C durante un periodo de 25 minutos.
- 60 5. Se añadió una suspensión de Celite (2,5 kg) en metilciclohexano (22 kg) a la mezcla de reacción.

6. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida ($p_{\min} = 25$ milibar), manteniendo una temperatura externa (camisa/baño) de 45°C a 50°C, proporcionando un residuo que se disolvió en metilciclohexano (36 kg).

5 7. Se separó luego una muestra para ensayar durante el proceso el contenido de tetrahidrofurano por GC.

8. El ensayo de tetrahidrofurano dio un resultado de 0,58%.

10 9. Se separaron los sólidos por filtración, y el filtrado se filtró a través de un tapón de gel de sílice (2,0 kg).

10 10. Ambas unidades filtrantes se lavaron con éter isopropílico (30 kg).

15 11. La mezcla metilciclohexano/éter isopropílico resultante que contenía (1*R*)-(S)-pinanodiol-1-bis-(trimetilsilil)amino-3-metilbutano-1-boronato se guardó en un recipiente a la temperatura ambiente hasta que se utilizó en el paso siguiente.

(1*R*)-(S)-Pinanodiol-1-amonio-trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato

20 1. Se cargó ácido trifluoroacético (12 kg) en otra vasija de reacción mantenida en atmósfera de nitrógeno.

2. Se cargó éter isopropílico (78 kg) en el ácido trifluoroacético y la mezcla resultante se enfrió a -10 °C con agitación.

25 3. La mezcla metilciclohexano/éter isopropílico que contenía (1*R*)-(S)-pinanodiol 1-bis(trimetilsilil)amino-3-metilbutano-1-boronato se añadió durante un periodo de 53 minutos causando la precipitación de un producto, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre -10 °C y -5 °C.

4. Se utilizó un enjuagado con éter isopropílico (5 kg) para completar la adición.

30 5. La mezcla de reacción se agitó durante 8 horas y 20 minutos más entre -9 °C y -7°C.

6. El sólido se recogió por filtración, se lavó con éter isopropílico (70 kg) en dos porciones, y se secó a presión reducida ($p_{\min} = 56$ mbar) entre 41 °C y 42 °C durante 2 horas y 15 minutos.

35 7. El sólido se agitó con agua D.I. (60 kg) durante 24 minutos a la temperatura ambiente, antes de separar el agua D.I. por filtración.

8. El sólido se lavó con agua D.I. (12 kg).

40 9. El sólido se secó luego a vacío ($p_{\min} = 4$ mbar) entre 40 °C y 44 °C durante 9 horas y 22 minutos, de spués de cuyo tiempo la pérdida por secado era 0,51%, lo cual cumple el requerimiento $\leq 1\%$.

45 10. El compuesto intermedio, (1*R*)-(S)-pinanodiol-1-amonio-trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato bruto, se empaquetó luego en bolsas simples de polietileno en tambores de polipropileno y se etiquetó. El rendimiento fue 72%.

Recristalización de (1*R*)-(S)-pinanodiol-1-amonio-trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato bruto

50 1. Se cargó (1*R*)-(S)-pinanodiol-1-amonio-trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato bruto, (13 kg) en un recipiente de reacción mantenido en atmósfera de nitrógeno.

2. Se cargó ácido trifluoroacético (31 kg) en el recipiente de reacción y la mezcla resultante se enfrió a 4 °C con agitación.

55 3. Una vez que se disolvió todo el sólido dejando una mezcla ligeramente turbia, se añadió éter isopropílico (29 kg) durante un periodo de 57 minutos, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 2 °C y 3 °C.

4. Después de completada la adición, la mezcla se filtró a través de un filtro a un recipiente de recogida mantenido en atmósfera de nitrógeno.

60 5. El reactor y el filtro se enjuagaron con una mezcla de ácido trifluoroacético (3,8 kg) y éter isopropílico (5 kg). El enjuagado se añadió al filtrado.

6. Se añadió éter isopropílico (126 kg) durante un periodo de 15 minutos causando la precipitación de un producto, mientras se mantenía la temperatura de reacción entre 16 °C y 18 °C.

7. La mezcla se agitó entre 16 °C y 18 °C durante 15 min, se enfrió luego a -5 °C durante un periodo de 67 minutos, y se agitó entre -3°C y -5 °C en atmósfera de nitrógeno durante 89 minutos.

8. El sólido se aisló luego por filtración, se lavó con éter isopropílico (48 kg) en dos porciones, y se secó a vacío (pmin = 2 mbar) entre 34 °C y 40 °C durante 2 horas y 55 minutos, después de cuyo tiempo la pérdida por secado era 0,32%, lo cual cumple el requerimiento de ≤ 0,5%.

9. El producto, (1R)-(S)-pinanodiol-1-amonio-trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato, se empaquetó luego en bolsas dobles de polietileno en tambores de fibra y se etiquetó. El rendimiento fue 86%.

Ejemplo 2: N-(2-Pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico anhídrido. Proceso de Fabricación

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

1. En una vitrina de humos, un matraz de reacción de vidrio con tres bocas equipado con una cabeza Claisen, registrador de temperatura y agitador mecánico se purgó con nitrógeno.

2. Se cargó en el matraz (1R)-(S)-pinanodiol-1-amonio-trifluoroacetato-3-metilbutano-1-boronato (2,0 kg).

3. Se cargó en el matraz BOC-L-fenilalanina (1,398 kg).

4. Se cargó en el matraz 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio-tetrafluoroborato, TBTU (1,864 kg).

5. Se cargó en el matraz diclorometano (15,8 L).

6. Se ajustó el motor de agitación para proporcionar agitación a 260 RPM.

7. Utilizando un baño de refrigeración hielo/agua, la mezcla de reacción se enfrió a 1,0 °C, manteniendo una atmósfera de nitrógeno.

8. Se cargó N,N-diisopropiletilamina (2,778 l) en un matraz de vidrio y se transfirió a la mezcla de reacción durante un periodo de 117 minutos utilizando una bomba peristáltica que mantenía un intervalo de temperatura de reacción de 0,7 °C – 2,1 °C. La velocidad de adición total era 23,7 ml/min.

9. Se utilizó un enjuagado con diclorometano (0,2 l) del matraz en la mezcla de reacción para completar la adición.

10. La mezcla de reacción se agitó durante 35 minutos adicionales. La temperatura al comienzo del tiempo de agitación era 1,8 °C, y 2,5 °C al final.

11. Se separó luego una muestra para ensayo durante el proceso por cromatografía líquida de alta resolución en fase inversa (RP-HPLC). Se encontró que el porcentaje de conversión era 99,3%.

12. La mezcla de reacción se transfirió en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces evaporadores rotativos. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 29-30 °C.

13. Se dividió acetato de etilo (4,0 l) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces evaporadores rotativos.

14. Las mezclas contenidas en cada matraz se concentraron de nuevo a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 29-30 °C.

15. Los residuos que quedaban en cada matraz evaporador rotativo se transfirieron luego nuevamente al matraz de reacción utilizando acetato de etilo (13,34 l).

16. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución acuosa de ácido fosfórico al 1% por mezcla de agua D.I. (13,18 l) y ácido fosfórico (0,160 kg).

17. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución acuosa de carbonato de potasio al 2 (12,0 l) por mezcla de agua D.I. (11,76 l) y carbonato de potasio (0,24 kg).
- 5 18. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución acuosa de cloruro de sodio al 10% (13,34 l) por mezcla de agua D.I. (13,34 l) y cloruro de sodio (1,334 kg).
- 10 19. Se cargó agua D.I. (13,34 l) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 380 RPM durante 7 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa (capa del fondo) se transfirió a vacío a un matraz adecuado y se desechó.
- 15 20. Se cargó de nuevo agua D.I. (13,34 l) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 385 RPM durante 7 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa (capa del fondo) se transfirió a vacío a un matraz adecuado y se desechó.
- 20 21. La solución de ácido fosfórico al 1% preparada en el Paso 16 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 365 RPM durante 7 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa ácida (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 25 22. La solución de carbonato de potasio al 2% preparada en el Paso 17 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 367 RPM durante 7 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa básica (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 30 23. La solución de cloruro de sodio al 10% preparada en el Paso 18 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 373 RPM durante 6 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 35 24. La solución de acetato de etilo se transfirió a un matraz evaporador rotativo y se concentró a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, manteniendo una temperatura de baño de 29-30 °C, para proporcionar un residuo.
- 40 25. El residuo se redisolvió luego en acetato de etilo (4,68 l).
- 45 26. La solución se concentró a vacío utilizando un evaporador rotativo, manteniendo una temperatura de baño de 29-30 °C, para proporcionar un residuo una vez más.
- 50 27. Se redisolvió luego nuevamente el residuo en acetato de etilo (4,68 l) y se tomaron dos muestras para determinación del contenido de agua por titulación Karl Fisher. Se determinó que el contenido de agua de dos muestras era 0,216 % y 0,207 %.
- 55 28. Utilizando una cantidad adicional de acetato de etilo (12,66 l), la mezcla se transfirió desde el matraz evaporador rotativo a un matraz de reacción seco equipado con un registrador de temperatura, un agitador mecánico, y un tubo sinterizado de dispersión de gas, y se purgó con nitrógeno.
- 60 (1S,2S,3R,5S)-pinanodiol-L-fenilalanina-L-leucina-boronato, sal HCl
1. La solución de acetato de etilo que contenía (1S,2S,3R,5S)-pinanodiol-N-BOC-L-fenilalanina-L-leucina-boronato se enfrió a -0,9 °C utilizando un baño de refrigeración hielo/agua.
2. Se borboteó cloruro de hidrógeno (1,115 kg) gaseoso en la mezcla de reacción durante un periodo de 1,48 horas. La temperatura al comienzo de la adición era -0,9 °C, y 6,8 °C al final.
3. Se dejó luego que la reacción se calentara a 14,4 °C durante 50 minutos, mientras se mantenía una atmósfera de nitrógeno.
4. Se retiró una muestra para ensayo durante el proceso por RP-HPLC. La conversión porcentual era 68,9 % (% de área).
5. La reacción se agitó durante 35 minutos. La temperatura al comienzo era 14 °C, y 14,8 °C al final.
6. Se retiró una muestra para ensayo durante el proceso por RP-HPLC. La conversión porcentual era 94,7% (% de área).

7. La reacción se agitó durante aproximadamente 50 minutos más, manteniendo una temperatura de $10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 5 8. Se retiró una muestra para ensayo durante el proceso por RP-HPLC. La conversión porcentual era 97,3%.
9. La reacción se agitó durante aproximadamente 50 minutos más, manteniendo una temperatura de $10\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$. La temperatura final era $14,6\text{ }^{\circ}\text{C}$.
10. Se retiró una muestra para ensayo durante el proceso por RP-HPLC. El tiempo total de reacción después de la adición de cloruro de hidrógeno gaseoso era cuatro (4) horas.
11. La conversión porcentual era 99%.
12. Se observó una lechada.
- 15 13. Se cargó n-heptano (8,8 l) en la mezcla de reacción.
14. La lechada se agitó durante 2 horas. La temperatura al comienzo del tiempo de agitación era $12,7\text{ }^{\circ}\text{C}$, y $15,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ al final.
- 20 15. El sólido se aisló por filtración en un embudo Buchner revestido con una almohadilla filtrante de fieltro de polipropileno.
16. El sólido se lavó con n-heptano (4,68 l).
- 25 17. En una vitrina de humos, se transfirió el sólido a tres bandejas de secado con no más de 2,54 cm de profundidad y se secó al aire durante 1 hora.
18. El sólido se secó luego a $\leq 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ a un vacío de 68,6 cm de Hg durante 16 horas 28 minutos en un horno de vacío equipado con un vacuómetro y un registrador de temperatura.
- 30 19. Se muestreó el sólido de cada bandeja de secado para determinar el % de Pérdida por Secado. Se determinó que la LOD era 0 %, 0,02 %, y 0,02 % en las tres muestras tomadas.
- 35 20. Se empaquetó luego (1S,2S,3R,5S)-pinanodiol-L-fenilalanina-L-leucina-boronato, sal HCl en bolsas dobles de polímero en tambores de fibra y se etiquetó, y muestreó finalmente.
21. El rendimiento aislado fue 1,87 kg, 79,1%. El compuesto intermedio se guardó a $2-8\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su utilización en la fabricación posterior.
- 40 (1S,2S,3R,5S)-Pinanodiol-N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-boronato
1. En una vitrina de humos, un matraz de reacción de vidrio con tres bocas equipado con una cabeza Claisen, registrador de temperatura y agitador mecánico se purgó con nitrógeno.
- 45 2. Se cargó en el matraz (1S,2S,3R,5S)-pinanodiol-L-fenilalanina-L-leucina-boronato, sal HCl (1,85 kg).
3. Se cargó en el matraz ácido 2-pirazinacarboxílico (0,564 kg).
- 50 4. Se cargó en el matraz tetrafluoroborato de 2-(H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio, TBTU (1,460 kg).
5. Se cargó en el matraz diclorometano (18,13 l).
- 55 6. Se ajustó el motor de agitación para proporcionar agitación a 272 RPM.
7. Utilizando un baño de refrigeración, la mezcla de reacción se enfrió a $-1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 60 8. Se cargó en un matraz de vidrio N,N-diisopropiletilamina (1,865 kg) y se transfirió a la reacción durante un periodo de 50 minutos utilizando una bomba peristáltica que mantenía un intervalo de temperatura de reacción de $-1,2\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $2,8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

9. Se utilizó un enjuagado con diclorometano (0,37 l) del matraz en la mezcla de reacción para completar la adición.
- 5 10. La mezcla de reacción se dejó calentar y se agitó durante 81 minutos adicionales.
11. La temperatura al comienzo del tiempo de agitación era 15 °C, y 24,9 °C al final.
12. Se separó luego una muestra para ensayo durante el proceso por RP-HPLC. Se encontró que el porcentaje de conversión era 99,9%.
- 10 13. La mezcla de reacción se transfirió en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces evaporadores rotativos. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida utilizando dos evaporadores rotativos, que mantenían una temperatura externa del baño de 33-34 °C.
- 15 14. Se dividió acetato de etilo (12,95 l) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces evaporadores rotativos.
15. Las mezclas contenidas en cada matraz se concentraron luego a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 33-34 °C.
- 20 16. Los residuos que quedaban en cada matraz evaporador rotativo se transfirieron luego nuevamente al matraz de reacción utilizando acetato de etilo (12,95 l).
- 25 17. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución acuosa de ácido fosfórico al 1% (12,34 l) por mezcla de agua D.I. (12,19 l) y ácido fosfórico (0,148 kg).
18. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución acuosa de carbonato de potasio al 2 (12,34 l) por mezcla de agua D.I. (12,09 l) y carbonato de potasio (0,247 kg).
- 30 19. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución acuosa de cloruro de sodio al 10% (12,34 l) por mezcla de agua D.I. (12,34 l) y cloruro de sodio (1,234 kg).
20. Se cargó agua D.I. (12,34 l) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 382 RPM durante 7 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 35 21. Se cargó de nuevo agua D.I. (13,34 l) en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 398 RPM durante 7 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 40 22. La solución de ácido fosfórico al 1% preparada en el Paso 17 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 364 RPM for 8 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa ácida (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 45 23. La solución de carbonato de potasio al 2% preparada en el Paso 18 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 367 RPM for 8 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa básica (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 50 24. La solución de cloruro de sodio al 10% preparada en el Paso 19 se cargó en el matraz de reacción que contenía la solución de acetato de etilo y la mezcla se agitó a 374 RPM for 8 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase acuosa (capa del fondo) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 55 25. La solución de acetato de etilo se transfirió a vacío en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces evaporadores rotativos y se concentró a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 34 °C.
- 60 26. Se dividió n-heptano (14,8 l) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces evaporadores rotativos. Las mezclas contenidas en cada matraz se concentraron luego a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 34 °C.

Anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico bruto

ES 2 457 593 T3

1. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución 1N de ácido clorhídrico (22,2 l) por mezcla de agua D.I. (20,36 l) y ácido clorhídrico (1,84 kg).
- 5 2. En un matraz de vidrio provisto de agitador, se preparó una solución 2N de hidróxido de sodio(12,03 l) por mezcla de agua D.I. (12,03 l) e hidróxido de sodio (0,962 kg).
- 10 3. Los residuos que contenían (1S,2S,3R,5S)-pitanodiol-N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-boronato en cada matraz evaporador rotativo se transfirieron luego a un matraz de reacción de vidrio con tres bocas equipado con un registrador de temperatura y un agitador mecánico, utilizando n-heptano (14,8 l) y metanol (14,8 l).
- 15 4. Se ajustó el motor de agitación para proporcionar agitación a 284 RPM.
5. Se cargó en el matraz ácido 2-metilpropanoborónico (0,672 kg).
6. Se cargó en el matraz 1N ácido clorhídrico preparado en el Paso 1 (11,2 l).
7. Se ajustó el motor de agitación para proporcionar agitación a 326 RPM.
- 20 8. La mezcla de reacción se agitó durante 16,38 horas. La temperatura del lote al comienzo era 28,6 °C, y la temperatura del lote al final era 21,6 °C.
9. Se separó luego una muestra para ensayo durante el proceso por RP-HPLC.
- 25 10. Se encontró que el porcentaje de conversión era 100%.
11. Se paró la agitación y se dejó que la mezcla bifásica se separara.
- 30 12. La capa de n-heptano (capa superior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
13. Se cargó n-heptano (5,37 l) en el matraz de reacción y la mezcla se agitó a 381 RPM durante 6 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase de n-heptano (fase superior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 35 14. Una vez más, se cargó n-heptano (5,37 l) en el matraz de reacción y la mezcla se agitó a 340 RPM durante 6 minutos. Se dejó que se separaran las capas y la fase de n-heptano (fase superior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 40 15. La solución acuosa de metanol se transfirió en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces evaporadores rotativos y se concentró a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 33-34 °C. Se recogieron 15 l de metanol.
- 45 16. Se utilizó diclorometano (5,37 l) para transferir de nuevo el residuo desde los matraces evaporadores rotativos al matraz de reacción.
17. Se cargó en el matraz hidróxido de sodio 2N (11,2 l) preparado en el Paso 2.
18. La capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 50 19. Se cargó en el matraz diclorometano (5,37 l) y la mezcla se agitó a 374 RPM durante 6 minutos. Se dejó que se separaran las fases y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
- 55 20. Se cargó de nuevo diclorometano (5,37 l) en el matraz y la mezcla se agitó a 368 RPM for 8 minutos. Se dejó que se separaran las fases y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió a un matraz adecuado y se desechó.
21. Se cargó en el matraz diclorometano (5,37 l).
- 60 22. Se cargó en el matraz ácido clorhídrico 1N (10,7 l) con agitación. Se determinó que el pH de la fase acuosa era 6.
23. Se interrumpió la agitación y se dejó que se separaran las fases.

24. La fase de diclorometano (capa inferior) se transfirió a vacío a un matraz de recogida de vidrio.
- 5 25. Se cargó en el matraz diclorometano (5,37 l) y la mezcla se agitó a 330 RPM durante 6 minutos. Se dejó que se separaran las fases y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió al matraz de recogida de vidrio.
- 10 26. Se cargó de nuevo diclorometano (5,37 l) en el matraz y la mezcla se agitó a 335 RPM durante 6 minutos. Se dejó que se separaran las fases y la capa de diclorometano (capa inferior) se transfirió al matraz de recogida de vidrio.
- 15 27. Los extractos de diclorometano se combinaron y se transfirieron en dos mitades aproximadamente iguales a dos matraces evaporadores rotativos y se concentraron a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 33-34 °C.
- 20 28. Se dividió acetato de etilo (12,95 l) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces evaporadores rotativos. Las mezclas contenidas en cada matraz se concentraron luego a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 45-46 °C.
- 25 29. Una vez más, se dividió acetato de etilo (12,95 l) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces evaporadores rotativos. Las mezclas contenidas en cada matraz se concentraron luego a presión reducida utilizando un evaporador rotativo, que mantenía una temperatura externa del baño de 45-46 °C, hasta que quedó aproximadamente 10% del volumen original.
- 30 30. Se dividió n-heptano (10,2 l) en dos porciones aproximadamente iguales y se cargó en los dos matraces evaporadores rotativos, y la lechada se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 2,67 horas a 22-23 °C.
- 35 31. El sólido se aisló por filtración en un embudo Buchner, revestido con una almohadilla filtrante de fieltro de polipropileno.
32. El sólido se lavó con n-heptano (2,96 l).
33. En una vitrina de humos, se transfirió el sólido a cuatro bandejas de secado y se secó al aire durante 1,25 horas.
34. El sólido se secó luego a 36 - 50 °C a un vacío de 68,6 cm de Hg durante 18 horas 27 minutos en un horno de vacío equipado con un vacuómetro y un registrador de temperatura.
- 40 35. Se muestreó el sólido de cada bandeja para determinar el % de Pérdida por Secado (LOD). Se determinó que la LOD era 0,38%, 0,62%, 0,71%, y 0,63% en las cuatro muestras tomadas.
- 45 36. Se envasó anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico bruto en dos frascos de boca ancha de HDPE de 5L a prueba de manipulación y se etiquetó.
37. El rendimiento aislado fue 1,314 kg, 83%.
- Recristalización de anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico bruto
- 50 1. Un matraz de reacción de vidrio equipado con un agitador mecánico, un condensador de reflujo y un registrador de temperatura se purgó con nitrógeno en una vitrina de humos.
2. Se cargó en el matraz acetato de etilo (21 l).
- 55 3. Se calentó el acetato de etilo a 66,8 °C en una atmósfera de nitrógeno, utilizando un baño agua caliente/vapor.
4. Se cargó lentamente en el matraz de reacción anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico bruto (1,311 kg). La carga transcurrió durante un periodo de 3 minutos.
- 60 5. La mezcla se agitó durante 1 minuto hasta que se hubo disuelto todo el sólido. La temperatura de la solución era 64 °C.
6. Se retiró la fuente de calor y la mezcla se enfrió lentamente a 60 °C utilizando un baño de refrigeración.

7. La solución de acetato de etilo caliente se transfirió a un matraz de recogida por una tubería de polímero y una cápsula de filtración en línea de polipropileno utilizando una bomba peristáltica.
- 5 8. La mezcla se dejó enfriar a 27,2 °C, y se dejó en reposo en una atmósfera de nitrógeno sin agitación, durante 17,75 horas. La temperatura final se registró como 20,5 °C.
9. La mezcla se enfrió utilizando un baño hielo/agua con agitación durante 2,33 horas. La temperatura al comienzo del tiempo de agitación era 3,8 °C, y -2,8 °C al final.
- 10 10. El sólido se aisló por filtración en un embudo Buchner revestido con una almohadilla filtrante de fieltro de polipropileno. El filtrado se recogió en un matraz de recogida.
11. El sólido se lavó con acetato de etilo (2,62 l), enfriado a 4,7 °C.
- 15 12. En una vitrina de humos, se transfirió el sólido a dos bandejas de secado.
13. El sólido se secó luego a 51-65 °C a un vacío de 68,6 cm de Hg durante 19 horas 10 minutos en un horno de vacío equipado con un vacuómetro y un registrador de temperatura.
- 20 14. Se muestreó el sólido para determinar el % de Pérdida por Secado (LOD). Se determinó que la LOD era 0,65 % y 0,62 % en las dos muestras tomadas.
- 25 15. Se envasó el anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico en cuatro frascos ambarinos de boca ancha de 1L, Tipo 3, con tapones revestidos de Teflón, y se etiquetó.
16. El rendimiento aislado fue 1,132 kg, 86,3%.
- 30 17. El anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico se guardó entre -25 y -15 °C.

Ejemplo 3 Ensayo de pureza para el anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico

La pureza del anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina-borónico (compuesto 3) se ensayó por HPLC en fase inversa.

Reactivos:

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

Instrumento:

- Cromatógrafo* Tomamuestras automático capaz de suministrar inyecciones de 20 ul y mantener una temperatura de 5°C
- líquido*
- de alta resolución*
- Bomba capaz de suministro en gradiente a 1,0 ml/min
- Columna* Detector UV capaz de monitorizar el efluente a 270 nm
Columna cromatográfica Symmetry C18, 250 mm x 4,6 mm DI, 5 µm, Waters, cat # WAT054275

Preparación de la muestra:

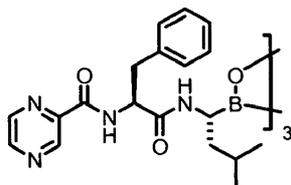
Se pesaron con exactitud aproximadamente 50 mg de compuesto 3 en un matraz aforado de 50 ml. Se añadió la fase móvil B (5 ml) y la mezcla se trató por ultrasonidos para disolver el compuesto 3 (aproximadamente 30-60 segundos). Se dejó que la solución alcanzara la temperatura ambiente, se diluyó a volumen con la fase móvil A y se mezcló bien. Cada muestra se preparó por duplicado y se mantuvo estable durante 7 días cuando se

| | | | | |
|-------------------------|--|---|-----------|----------|
| Parámetros HPLC: | <i>Fase móvil A:</i> | guardó a 2-8°C protegida de la luz. Acetonitrilo/agua/ácido fórmico, desgasificada | 30:70:0,1 | (v/v/v), |
| | <i>Fase móvil B:</i> | Acetonitrilo/agua/ácido fórmico, desgasificada | 80:20:0,1 | (v/v/v), |
| | <i>Tasa de flujo:</i> | 1,0 ml/min | | |
| | <i>Detector:</i> | UV a 270 nm | | |
| | <i>Volumen de inyección:</i> | 20 µl | | |
| | <i>Temp. de columna:</i> | Ambiente | | |
| | <i>Temp. de la bandeja de muestra:</i> | 5°C | | |

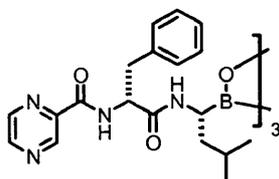
| <i>Programa de gradiente:</i> | Tiempo | %A | %B |
|-------------------------------|--------|-----|-----|
| | 0 | 100 | 0 |
| | 15 | 100 | 0 |
| | 30 | 0 | 100 |
| | 45 | 0 | 100 |
| | 47 | 100 | 0 |
| | 55 | 100 | 0 |

Sustancias

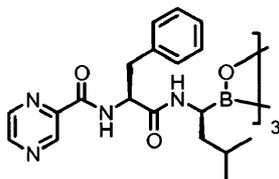
Compuesto 3 Anhídrido N-(2-piracina-carbonil)-L-fenilalanina-L-leucina borónico



Compuesto 4 Anhídrido N-(2-piracina-carbonil)-D-fenilalanina-L-leucina borónico



Compuesto 5 Anhídrido N-(2-piracina-carbonil)-L-fenilalanina-D-leucina borónico



5 El tiempo de retención del compuesto 3 era típicamente entre 10 y 14 minutos cuando se utilizó un sistema HPLC con un volumen de retardo de 1,3 minutos. Los compuestos 4 y 5 se co-elúan con un tiempo de retención mayor, con una resolución de $\geq 2,0$.

La retención relativa del compuesto 3 en un cromatograma muestra respecto a la correspondiente del cromatograma estándar se calculó de acuerdo con la ecuación siguiente:

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

10

donde:

R_r = retención relativa
 t_{sam} = tiempo de retención del pico del compuesto 3 en el cromatograma muestra, minutos
 t_{std} = tiempo de retención del pico de la sustancia fármaco en el cromatograma estándar precedente más próximo, minutos

5

Los resultados de ensayo se calcularon para cada muestra de acuerdo con la ecuación siguiente:

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

10

donde:

A_{sam} = respuesta del área del pico del compuesto 3 en la preparación de la muestra
 A_{std} = respuesta media del área del pico del compuesto 3 en la preparación estándar de trabajo
 W_{std} = peso del estándar, mg
 P = pureza asignada del estándar (formato decimal)
 W_{sam} = peso de la muestra, mg
 M = contenido de humedad de la muestra, %
 100 = conversión en porcentaje

15

20

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

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

25

donde

R_r = retención relativa
 t_i = tiempo de retención de la impureza individual
 t_{ds} = tiempo de retención del pico del compuesto 3

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

30

donde:

l_i = impureza individual
 A_i = respuesta del área del pico de la impureza individual en la preparación de la muestra
 A_{std, 1%} = respuesta media de área del pico del compuesto 3 en la preparación estándar al 1%
 W_{std} = peso del estándar, mg
 W_{sam} = peso de la muestra, mg
 P = pureza asignada del estándar (formato decimal)
 DF = factor de dilución, 1/100
 RF_i = factor de respuesta relativa de la impureza individual
 100 = factor de conversión en porcentaje

35

40

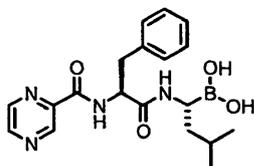
Cuando se ensayó por este método, el anhídrido N-(2-pirazinacarbonil)-L-fenilalanina-L-leucina borónico del Ejemplo 2 exhibió impurezas totales inferiores a 1%.

45

Si bien la invención que antecede se ha descrito con cierto detalle para propósitos de claridad y comprensión, estas realizaciones particulares deben considerarse como ilustrativas y no restrictivas.

REIVINDICACIONES

1. Un proceso en gran escala para formar un compuesto de fórmula (XIV):

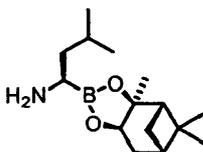


(XIV)

5

o un anhídrido de ácido borónico del mismo, que comprende los pasos:

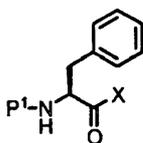
- (aa) acoplamiento de un compuesto de fórmula (XVIII):



(XVIII)

10

o una sal de adición de ácido del mismo, con un compuesto de fórmula (XIX):



(XIX)

15

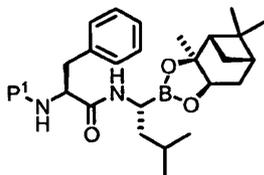
en donde:

P¹ es un resto escindible protector de grupo amino; y

X es OH o un grupo lábil;

para formar un compuesto de fórmula (XX):

20



(XX)

en donde P¹ es como se define arriba, comprendiendo dicho paso de acoplamiento (aa) los pasos:

25

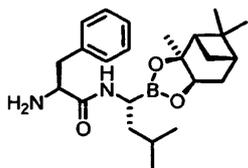
(i) acoplar el compuesto de fórmula (XVIII) con un compuesto de fórmula (XIX), en donde X es OH en presencia de tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TBTU) y una amina terciaria en diclorometano;

(ii) realizar un cambio de disolvente para reemplazar diclorometano con acetato de etilo; y

(iii) realizar un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo;

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

30



(XXI)

o una sal de adición de ácido del mismo, comprendiendo dicho paso (bb) de eliminación del grupo protector los pasos:

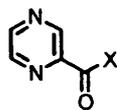
35

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

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

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

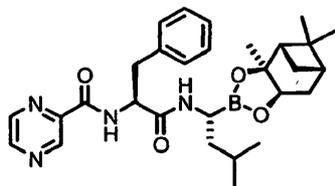
(cc) acoplar el compuesto de fórmula (XXI) con un reactivo de fórmula (XXII):



(XXII)

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

5



(XXIII),

comprendiendo dicho paso de acoplamiento (cc) los pasos:

10

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

(ii) realizar un cambio de disolvente para reemplazar diclorometano con acetato de etilo; y

(iii) realizar un lavado acuoso de la solución de acetato de etilo; y

(dd) desproteger el resto ácido borónico para formar el compuesto fórmula (XIV) o un anhídrido de ácido borónico del mismo, comprendiendo dicho paso de desprotección (dd) los pasos:

15

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

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

(iii) separar las capas de disolvente; y

20

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

2. El proceso de la reivindicación 1, en donde P¹ es *tert*-butoxicarbonilo.

25

3. El proceso de la reivindicación 1 ó 2, en donde la solución de acetato de etilo del paso (aa) (iii) se seca azeotrópicamente y se trata luego con HCl gaseoso.

4. El proceso de la reivindicación 1, en donde el paso (bb) (iii) comprende los pasos:

30

(1) separar las capas de disolvente;

(2) ajustar la capa acuosa a pH básico;

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

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

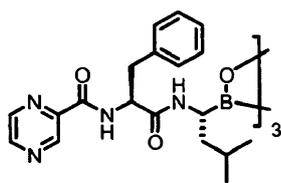
5. El proceso de la reivindicación 4, en donde en el paso (dd)(iii)(4), la capa acuosa se ajusta a un pH inferior a 6.

35

6. El proceso de la reivindicación 4, en donde en el paso (dd) (iv), el compuesto de fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se extrae en diclorometano, se intercambia el disolvente a acetato de etilo, y el compuesto de fórmula (XIV), o un anhídrido de ácido borónico del mismo, se cristaliza por adición de hexano o heptano.

40

7. El proceso de la reivindicación 6, en donde la adición de hexano o heptano da como resultado la cristalización de un anhídrido de ácido borónico cíclico trimero de fórmula (XXIV):



(XXIV).

45

8. El proceso de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el proceso utiliza al menos 5 moles de al menos un material de partida.