

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 475 721**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4965 (2006.01)

C07D 213/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.08.2010** **E 10814260 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.06.2014** **EP 2470182**

54 Título: **Síntesis de un piperazina neuroestimulante**

30 Prioridad:

24.08.2009 US 236477 P

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

11.07.2014

73 Titular/es:

**NEURALSTEM, INC. (100.0%)
9700 Great Seneca Highway
Rockville, MD 20850, US**

72 Inventor/es:

**VENKATRAMAN, SRIPATHY;
MAHMOOD, SYED;
MOBELE, BINGIDIMI I.;
LAPINA, OLGA;
VERCOE, KELLIE;
LI, YING;
SALSBURY, JONATHAN y
MCLAWS, MARK**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 475 721 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 un piperazina neuroestimulante

5 Referencia cruzada con solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica prioridad de la solicitud provisional de Estados Unidos 61/236,477 presentada el 24 de agosto 2009.

10 Campo técnico

La presente invención se refiere a un método de síntesis para los compuestos y sus sales útiles como agentes neurogénesis. Más específicamente, la invención se dirige a un método para preparar piperazinas disustituidas acopladas con bencilo y porciones de ácido nicotínico.

15

Técnica anterior

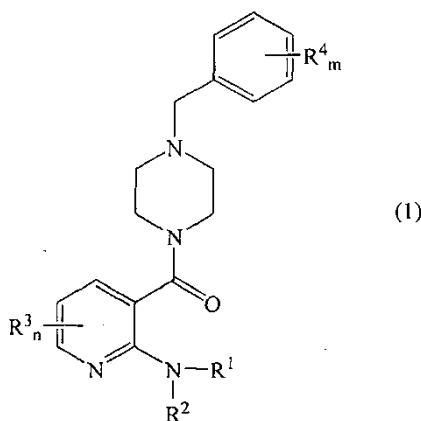
La patente de los Estados Unidos 7,560,553, describe varios compuestos, que incluyen las clases de compuestos cuya síntesis se describe en la presente descripción, como agentes de neurogénesis. Así, los compuestos preparados de acuerdo con el método de la invención son útiles en el tratamiento de varias afecciones que se benefician de promover la neurogénesis por proliferación/diferenciación de células del tallo/progenitoras multipotentes del hipocampo humanas y progenitoras neuronales. Tales afecciones incluyen la enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, demencia, accidente cerebrovascular, lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal, esquizofrenia, y similares. El método de síntesis proporcionado por la invención evita el uso de sustancias controladas tal como bencil piperazina.

25

Descripción de la invención

El método de la invención emplea piperazina ya sea protegida en uno de los nitrógenos del anillo o por reacción selectiva en sólo un nitrógeno del anillo, y un ácido nicotínico sustituido como materiales de partida y culmina al proporcionar la piperazina disustituida que comprende una sustitución de bencilo en uno de los nitrógenos del anillo. La síntesis puede incluir además la conversión de esta piperazina disustituida a una sal adecuada. Así, en un aspecto, la invención se refiere a un método para sintetizar un compuesto de la fórmula:

30



35

en donde

R¹ es alquilo;

R² es H o alquilo;

40

cada R³ y R⁴ es independientemente alquilo, alquenoilo, halo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, NR₂, SR,

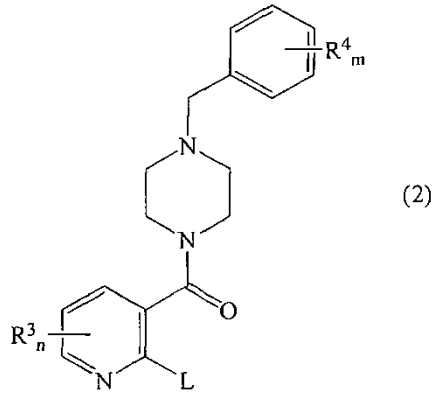
o OR donde R es alquilo o arilo;

n es 0, 1 o 2;

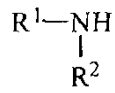
m es 0, 1, 2 o 3;

45

cuyo método comprende reaccionar un compuesto de la fórmula

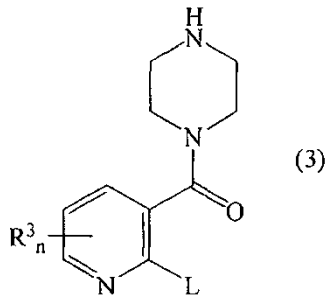


5 donde R^3 , R^4 , m y n son como se definen en la fórmula (1) y L es un grupo saliente, con un compuesto de la Fórmula

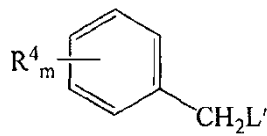


en donde R^1 y R^2 son como se definen en la fórmula (1).

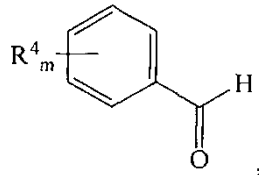
10 El compuesto de la fórmula (2) puede prepararse reaccionando un compuesto de la fórmula



15 en donde R^3 y n son como se definen en la fórmula (1) y L es un grupo saliente, con un compuesto de la fórmula

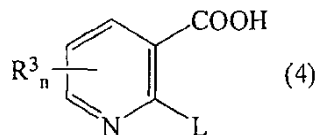


20 en donde R^4 y m son como se definen en la fórmula (1), y L' es un grupo saliente, o con un compuesto de la fórmula

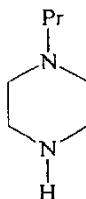


para formar una imina seguido por la reducción de dicha imina.

25 A su vez, el compuesto de la fórmula (3) puede obtenerse reaccionando un compuesto de la fórmula



en donde R^3 y n son como se definen en la fórmula (1) y L es un grupo saliente, con un compuesto de la fórmula



5 en donde Pr es un grupo protector,
seguido por la eliminación del grupo protector o el acoplamiento selectivo con un nitrógeno usando piperazina
desprotegida. La reacción que emplea un grupo protector puede llevarse a cabo ya sea mediante el contacto del
compuesto de la fórmula (4) con la piperazina protegida en presencia de un agente de acoplamiento peptídico o
10 mediante la conversión del compuesto de la fórmula (4) al haluro de benzoilo correspondiente y al añadir la piperazina
protegida en presencia de una base suave.

El compuesto de la fórmula (1) puede convertirse además en una sal de adición ácida tal como la sal de sulfato, fosfato,
hidrohaluro, citrato, fumarato, tosilato, o besilato. Las sales mono y bis pueden formarse.

15 Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra un proceso óptimo para la Etapa 1 B del Esquema 1.

La Figura 2 muestra un proceso óptimo para la Etapa 2 del Esquema 1.

La Figura 3 muestra un proceso óptimo para las Etapas 3 y 4 del Esquema 1.

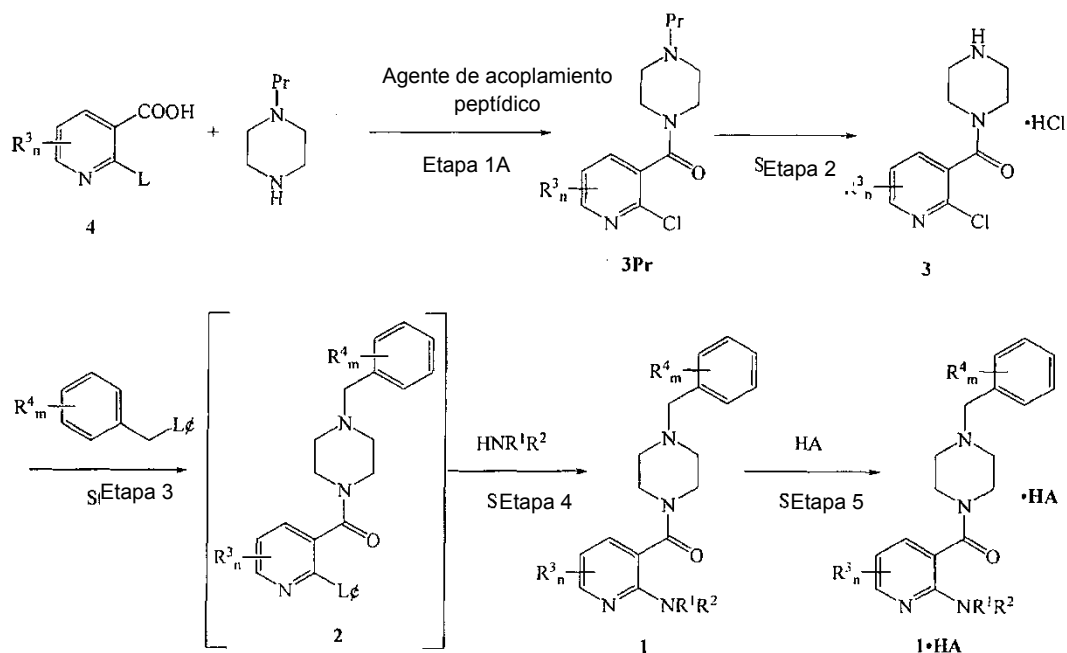
20 La Figura 4 muestra un proceso óptimo para la Etapa 5 del Esquema 1.

Modos de realizar la invención

25 Se demostró que el compuesto de la fórmula (1) y sus sales, y en particular el compuesto de la fórmula 1E y sus sales
tienen actividad de neurogénesis como se describió en la patente de los Estados Unidos 7,560,553 mencionada
anteriormente. La presente invención se refiere a un método mejorado para la síntesis de estos compuestos como se
ilustra más abajo en los Ejemplos 1-5.

Más generalmente, la síntesis de estos compuestos comprende las siguientes etapas.

Esquema 1

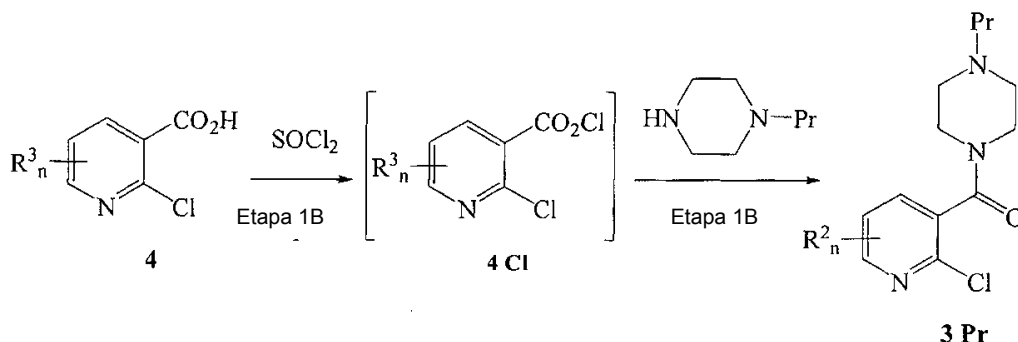


5 Como se muestra en el Esquema 1, el ácido nicotínico opcionalmente sustituido que contiene un grupo saliente en la posición 2 reacciona con piperazina semi-protégida en presencia de un agente de acoplamiento peptídico en presencia de base suave y un solvente adecuado. Típicamente, la reacción se lleva a cabo en condiciones ambientales para proporcionar una forma protegida del compuesto de la fórmula (3), el cual después se desprotege en ácido en un solvente hidrofílico a temperaturas ligeramente elevadas. El producto resultante de la fórmula (3) reacciona con bencilo opcionalmente sustituido que contiene un grupo saliente en la porción metileno en presencia de base suave y solvente adecuado, además, a temperaturas elevadas para proporcionar el compuesto de la fórmula (2) que no necesita asilarse, pero que reacciona con una amina primaria o secundaria a temperaturas elevadas y un solvente adecuado para obtener el compuesto de la fórmula (1). El compuesto de la fórmula (1) puede reaccionarse después con 1 o 2 mol de ácido para obtener una sal de adición ácida. Si la etapa 3 se realiza mediante la sustitución de un benzaldehído por bencil-L', se forma una imina la cual se reduce después a la amina usando borohidruro sódico, cianoborohidruro sódico, triacetoxiborohidruro sódico o borohidruro de litio en casi cualquier solvente orgánico.

20 Típicamente, la temperatura a la cual se realiza la etapa 1A es entre 20 °C y 30 °C; las bases típicas incluyen trietilamina u otras aminas terciarias y un exceso de un solvente semi-polar no prótico tal como acetato de butilo o acetato de isopropilo. La etapa 2 se realiza típicamente entre 50 °C y 60 °C usando un ácido fuerte como HCl o ácido sulfúrico en presencia de un solvente alcohol. Las etapas 3 y 4 se realizan entre 45 °C y 60 °C para la etapa 3 y entre 80 °C y 90 °C para la etapa 4. La etapa 3 se realiza usando una base suave tal como trietilamina y un solvente aprótico tal como acetonitrilo o DMSO. La etapa 4 se realiza además en presencia de un solvente aprótico.

25 La etapa 5 se lleva a cabo bajo condiciones dependientes de la naturaleza del ácido; ya sea uno o dos equivalentes del ácido pueden usarse para obtener una sal adecuada.

30 En una alternativa a la etapa 1A, el compuesto de la fórmula (3 Pr) puede prepararse usando la etapa 1B evitando el uso de un agente de acoplamiento peptídico costoso:



La etapa 1B se realiza entre 60°C y 70°C en presencia de una base, tal como una amina terciaria, en un exceso de un solvente semipolar no prótico tal como acetato de butilo o acetato de isopropilo. Así, la etapa 1B se realiza bajo condiciones similares a las de la Etapa 1A excepto que el ácido nicotínico se convierte en el haluro de acilo en presencia de SOCl_2 .

5

El resto del Esquema puede permanecer igual aunque el rendimiento puede mejorarse disminuyendo ligeramente la temperatura a la cual se realiza la etapa 3.

10

Como se señaló anteriormente, ambos R^1 y R^2 pueden ser alquilo y además los sustituyentes alquilo se incluyen entre los presentes opcionalmente en las porciones de ácido nicotínico y bencilo; y además, NR_2 SR OR pueden ser sustituyentes donde R es alquilo. Los sustituyentes R^3 y R^4 pueden ser además alquenilo.

15

Como se usa en la presente, los términos "alquilo", y "alquenilo" incluyen radicales hidrocarbilo monovalentes de cadena recta, cadena ramificada y cíclicos, y combinaciones de estos, que contienen solamente C y H cuando son no sustituidos. Los ejemplos incluyen metilo, etilo, isopropilo, isobutilo, ciclohexilo, ciclopentiletilo, 2-propenilo, 3-butenilo, y similares. El número total de átomos de carbono en cada dicho grupo se describe algunas veces, *por ejemplo*, cuando el grupo puede contener hasta 10 átomos de carbono puede representarse como 1-10C o como C1-C10 o C1-10. En general, se prefiere que uno de R^1 y R^2 sea H y el otro alquilo con un máximo de 10 o 8 átomos de carbono, y R^3 y R^4 cuando se usan en la práctica como alquilo o alquenilo típicamente contienen un máximo de 8 o 6 átomos de carbono.

20

Típicamente, los sustituyentes alquilo y alquenilo de la invención contienen 1-10C (alquilo) o 2-10C (alquenilo). Preferentemente estos contienen 1-8C (alquilo) o 2-8C (alquenilo). Algunas veces estos contienen 1-4C (alquilo) o 2-4C (alquenilo). Un grupo simple puede incluir más de un enlace doble; tales grupos se incluyen dentro de la definición del término "alquenilo".

25

Los grupos alquilo y alquenilo pueden ser insustituídos o sustituidos en la medida que tal sustitución tenga sentido químicamente desde el punto de vista del procedimiento de síntesis y las propiedades del producto final. Se prefieren las formas insustituídas.

30

Como se señalo además anteriormente, R^3 y R^4 pueden ser además arilo o heteroarilo.

35

Como se usa en la presente, "arilo" se refiere a una porción monocíclica o bicíclica fusionada que tiene características de aromaticidad; los ejemplos incluyen fenilo y naftilo. Igualmente, "heteroarilo" se refiere a tales sistemas monocíclicos o bicíclicos fusionados que contienen como miembros anulares uno o más heteroátomos seleccionados de O, S y N. La inclusión de un heteroátomo permite la aromaticidad en anillos de 5 miembros así como en anillos de 6 miembros. Los sistemas heteroaromáticos típicos incluyen grupos aromáticos monocíclicos de C5-C6 tales como piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazinilo, tienilo, furanilo, pirrolilo, pirazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo e imidazolilo y las porciones bicíclicas fusionadas formadas por la fusión de uno de estos grupos monocíclicos con un anillo de fenilo o con cualquiera de los grupos monocíclicos heteroaromáticos para formar un grupo bicíclico C8-C10 tales como indolilo, bencimidazolilo, indazolilo, benzotriazolilo, isoquinolilo, quinolilo, benzotiazolilo, benzofuranilo, pirazolopiridilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, cinnolinilo, y similares. Cualquier sistema bicíclico de anillo fusionado o monocíclico que tiene las características de aromaticidad en términos de distribución de electrones a través de todo el sistema anular se incluye en esta definición. Se incluyen, además, los grupos bicíclicos donde al menos el anillo que está directamente unido al resto de la molécula tiene las características de aromaticidad. Típicamente, los sistemas anulares contienen átomos de 5-12 miembros del anillo. Preferentemente, los heteroarilos monocíclicos contienen 5-6 miembros del anillo, y los heteroarilos bicíclicos contienen 8-10 miembros del anillo.

45

50

Igualmente, "arilalquilo" y "heteroarilalquilo" se refiere a los sistemas anulares aromáticos y heteroaromáticos que se unen a su punto de unión a través de un grupo de enlace tal como un alquileo, que incluye enlazadores saturados o insaturados, cíclicos o acíclicos que contienen opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados de O y S. Típicamente el enlazador es C1-C8 alquilo o un enlazador de C1-C8 heteroalquilo. Un grupo arilalquilo puede ser, por ejemplo, un anillo fenilo y un C1-C4 alquileo donde los grupos alquilo o heteroalquilo pueden opcionalmente ciclarse para formar un anillo tal como ciclopropano, dioxolano, o oxaciclopentano.

55

"Alquileo" como se usa en la presente se refiere a un grupo hidrocarbilo divalente; ya que éste es divalente, puede unir otros grupos juntos. Típicamente se refiere un $-(\text{CH}_2)_n-$ donde n es 1-8 y preferentemente n es 1-4, aunque donde se especifique, un alquileo pueden sustituirse, además, por otros grupos, y puede ser de otras longitudes, y las valencias abiertas no necesitan estar en extremos opuestos de una cadena. Así, $-\text{CH}(\text{Me})-$ y $-\text{C}(\text{Me})_2-$ pueden referirse, además, como alquileños, como un grupo cíclico tal como ciclopropan-1,1-diilo.

60

Los grupos arilo, heteroarilo, arilalquilo y heteroarilalquilo pueden ser insustituídos o sustituidos en la medida que tal sustitución tenga sentido químicamente desde el punto de vista del procedimiento de síntesis y las propiedades del producto final. Se prefieren las formas insustituídas.

"Halo", como se usa en la presente incluye fluoro, cloro, bromo y yodo. El bromo y el cloro son frecuentemente preferidos.

5 Los grupos salientes adecuados para L y L' incluyen halo, tal como cloro, yodo o bromo, tosilatos (OTs), y triflatos (OTf). Otros grupo salientes adecuados incluyen mesilatos (OMs), y brosilatos (OBr).

10 Los agentes de acoplamiento peptídicos incluyen O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio tetrafluoroborato (TBTU) así como también hidrocloreuro de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida (EDC), N-hidroxibenzotriazol (HOBT), carbonil diimidazol (CDI), 2-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato (HATU), N,N' Diciclohexil carbodiimida (DCC), y N-hidroxi succinamida (NHS).

Los agentes protectores adecuados incluyen 9-fluoroenil metil carbamato (Fmoc), y t-butil carbamato (Boc) así como TBDMS, TMS, TES, TIPS, TBDPS, benzoilo y carbamatos o amidas en general.

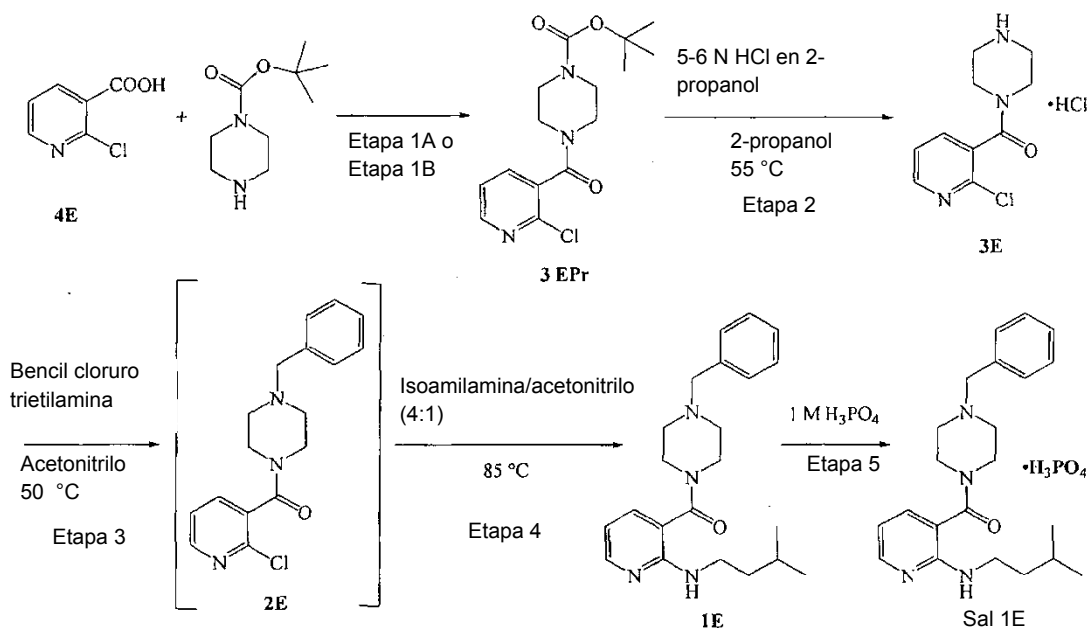
15 Estas listas no son exhaustivas y muchos grupos salientes adecuado, grupos protectores, y agentes de acoplamiento de péptidos son conocidos en la técnica y muchos están disponibles comercialmente.

20 Todas estas reacciones pueden realizarse en solventes orgánicos o solventes orgánicos acuosos tales como tetrahidrofurano (THF), dimetil formamida (DMF), cloruro de metileno, MTBE, todos los alcanos, NMP, DMA, EtOAc, y en otros que para la etapa (2), a excepción de solventes alcohólicos).

Las modalidades preferidas incluyen aquellas en donde R² es H y R¹ es etilo, propilo, butilo o amilo que incluye las formas iso de estos. Las formas adicionalmente preferidas son aquellas en donde m y/o n son 0 o 1, preferentemente 0. Los grupos salientes preferidos son halo, preferentemente cloro.

25 Los siguientes ejemplos se ofrecen para ilustrar, pero no para limitar, la invención.

Los ejemplos 1-5 detallan las siguientes series de reacciones.

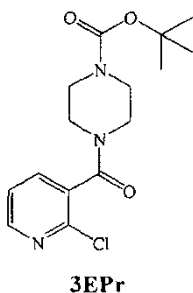


30

Ejemplo 1

Preparación de 3E protegido (Etapa 1A)

35



- 5 A. Ácido cloronicotínico (5.0 g) (4E) se cargó a un matraz de fondo redondo seguido por acetonitrilo (anhidro, 40 ml) y TBTU (1.4 equiv). A la solución resultante se añadió trietilamina (2.0 equiv) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 30 minutos. Boc-piperazina (1.4 equiv) se añadió en porciones manteniendo la temperatura dentro del matraz a <20 °C. La reacción se calentó lentamente hasta 40 °C y se evaluó completa por análisis por HPLC después de cuatro horas.
- 10 La mezcla de reacción se apagó con una solución de NaHCO₃ saturado (40 ml) y se extrajo con acetato de isopropilo (IPAc) (2 × 40 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con a 50 % solución de salmuera (40 ml). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta un cuarto del volumen original. El aceite resultante se volvió una suspensión espesa con la agitación.
- 15 Se añadió metil terc butil éter (MTBE, 100 ml) y la suspensión resultante se enfrió en un baño de agua helada y se agitó por una hora. Los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman® y la torta del filtro se lavó con MTBE frío (20 ml). El sólido se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente para proporcionar 6.7 g (65% de rendimiento) de 3EPr como un sólido marrón claro.
- 20 La reacción anterior se repitió bajo condiciones idénticas y en la misma escala resultando en 6.5 g (65% de rendimiento) de 3EPr.
- 25 B. El procedimiento del párrafo A se repitió usando 1 g en lugar de 5 g de ácido cloronicotínico y cantidades correspondientes de otros reactivos, y usando acetato de etilo o acetato de isopropilo como solventes. Los rendimientos fueron:
- Acetato de etilo: 50% con una pureza por HPLC de 95.5% (AUC @ 226 nm).
 - Acetato de isopropilo: 80% con una pureza por HPLC de 97.8% (AUC @ 226 nm).
- 30 C. En un procedimiento modificado a partir del párrafo A, ácido cloronicotínico (5.0 g) se cargó a un matraz de fondo redondo seguido por IPAc (grado reactivo, 40 ml) y trietilamina (2.0 equiv). A la solución resultante se añadió TBTU (1.4 equiv) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente por 30 minutos. Boc-piperazina (1.4 equiv) se añadió en porciones manteniendo la temperatura dentro del matraz a <20 °C. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante el fin de semana y se evaluó completa por análisis por HPLC después de 50 horas. La mezcla de reacción se apagó con solución de NaHCO₃ saturado (40 ml) y se extrajo con IPAc (2 × 40 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con una 50% solución de salmuera (40 ml).
- 35 La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta un cuarto del volumen original.
- 40 Al aceite resultante se añadió MTBE (100 ml) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente por 5.5 horas y por otras dos horas en un baño de agua helada. Los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman® y la torta del filtro se lavó con MTBE frío (20 ml). El producto se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente para proporcionar 6.3 g (61% de rendimiento) de 4EPr como un sólido marrón claro. La pureza por HPLC fue >99.9% (AUC @ 226 nm).
- 45 D. La reacción del párrafo C se escaló hasta 10 g y se completó después de 16 horas. El extracto de IPAc obtenido después del tratamiento acuoso de la misma manera que anteriormente se dividió en dos partes iguales. Cada parte se redujo hasta 20 g (≈1:1 IPAc/producto en peso) a presión reducida.
- 50 Parte 1: A la lechada resultante se añadió MTBE (100 ml). La suspensión que resultó se agitó a temperatura ambiente por 16 horas y por otras dos horas en un baño de agua helada. Los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman® y la torta del filtro se lavó con MTBE frío (20 ml). El producto se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente para proporcionar 6.8 g (66% de rendimiento) de 4EPr como un sólido marrón claro. La pureza por HPLC fue >99.9% (AUC @ 226 nm).

Parte 2: El proceso para la Parte 2 fue el mismo que para la Parte 1 pero se usaron heptanos como el antisolvente, resultando en 8.2 g (80% de rendimiento) de 4EPr como un sólido marrón claro. La pureza por HPLC fue >99.9% (AUC @ 226 nm).

5 Ejemplo 2

Preparación de 3EPr por la Etapa 1B

10 A. Ácido cloronicotínico (5.0 g, 31.7 mmol) se cargó a un matraz de fondo redondo seguido por tolueno (anhidro, 40 ml) y DMF (120 µl, 0.05 equiv). La lechada resultante se calentó hasta 55°C y después cloruro de tionilo (4.6 ml, 2.0 equiv) se añadió en forma de gotas durante cinco minutos. La lechada se agitó a 55°C por tres horas durante cuyo tiempo se observó desprendimiento de gas y la mezcla se volvió homogénea. Una muestra se tomó y se apagó en metanol que contiene trietilamina para dar el éster de metilo para el análisis por HPLC. El análisis por HPLC mostró que la conversión del cloruro ácido se había completado. El matraz se equipó para la destilación y se calentó hasta reflujo. Aproximadamente 20 ml del solvente se eliminaron, después la solución se enfrió hasta la temperatura ambiente. Un matraz separado se cargó con N-Boc-piperazina (7.1 g, 1.2 equiv), acetonitrilo (30 ml, 6 vol), y trietilamina (13.3 ml, 3.0 equiv). Se detectó una endotermia moderada. La solución preparada of cloruro ácido se añadió después a una velocidad que mantuvo la temperatura interna por debajo de 35 °C. La lechada resultante se agitó por una hora a temperatura ambiente. El análisis por HPLC mostró que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se apagó con solución de NaHCO₃ saturado (20 ml) y la capa acuosa se extrajo con acetato de isopropilo (20 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con agua (10 ml). El análisis por HPLC del lavado con agua mostró alguna pérdida del producto a la capa acuosa. La capa orgánica se concentró hasta aproximadamente dos volúmenes y después se añadieron heptanos (50 ml) para inducir la precipitación. La lechada resultante se agitó a temperatura ambiente por 30 minutos, se enfrió hasta 0-5 °C por una hora, se filtró, y se lavó con heptanos. La torta húmeda se secó después durante la noche al vacío para dar 9.85 g de 3EPr [MDM-W-1(14), 95% de rendimiento, 99.8% en área por HPLC] como un sólido amarillo claro.

25 B. El procedimiento del párrafo A de este ejemplo se realizó usando 1.2 equivalentes de cloruro de tionilo y 1.1 equivalentes de N-Boc-piperazina. La reacción de 2-ácido cloronicotínico con cloruro de tionilo se realizó a 65 °C para controlar mejor el desprendimiento de gas. La reacción del cloruro ácido intermedio y N-Boc-piperazina se realizó en IPAc en lugar de acetonitrilo para ayudar a evitar la precipitación del bicarbonato sódico durante el apagado. La reacción produjo 3EPr como un sólido blanco hueso [MDM-W-5(8), 9.83 g, 95% de rendimiento, >99.9% en área por HPLC].

30 C. El apagado y tratamiento de la reacción con solución de bicarbonato sódico acuoso puede conducir a una emulsión que requiere tiempo para separarse. Cambiar a un apagado con agua alivió este problema en una pequeña escala; sin embargo a medida que aumentaba la escala, persistió una capa fragmentada significativa. La capa fragmentada podría disolverse mediante calentamiento ligero de la mezcla bifásica a 30-35 °C.

Ejemplo 3

40 Desprotección (Etapa 2)

A. 1-g de 3EPr preparado en el Ejemplo 1 o el Ejemplo 2 se trató con 2 equivalentes de HCl y 5-6N TF 2-propanol a 50 °C. Se encontró que la reacción se completó en 6 horas.

45 B. El método del párrafo A se repitió con 6.7 g de 3EPr. A una solución de 3EPr (6.65 g) en 2-propanol (5 vol) se añadió 5-6 N HCl en 2-propanol (2 equiv). La reacción se calentó hasta 40 °C y se evaluó completa por análisis por HPLC después de cuatro horas. Una suspensión blanca se formó durante este tiempo.

50 La reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman®. La torta del filtro se lavó con 2-propanol (20 ml). El sólido se secó bajo alto vacío para obtener 4.63 g (86% de rendimiento) de 3E•HCl como un sólido blanco. La ¹H NMR fue consistente con la estructura asignada y la pureza por HPLC fue >99.9% (AUC @ 226 nm).

55 C. El proceso del párrafo A se repitió usando 11.5 g de 3EPr. A una solución de 3EPr (11.5 g) en IPA (70 ml, 6 vol) se añadió 5-6 N HCl en IPA (2 equiv). La reacción se calentó hasta 50 °C y se evaluó completa por análisis por HPLC después de nueve horas. Una suspensión blanca se formó durante este tiempo.

60 La reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman®. La torta del filtro se lavó con IPA (2 × 15 ml). El sólido se secó bajo alto vacío para obtener 9.01 g (97% de rendimiento) de 3E•HCl como un sólido blanco. La ¹H NMR fue consistente con la estructura asignada y la pureza por HPLC fue >99.9% (AUC @ 226 nm).

En cada uno de los casos anteriores, la adición del ácido en 2-propanol puede llevarse a cabo a temperaturas más altas, por ejemplo, 55 °C o 60 °C. Esto controla mejor el desprendimiento de gas.

D. El compuesto 3EPr (9.0 g, 27.6 mmol) se cargó a un matraz de fondo redondo seguido por 2-propanol (5 vol). La lechada se calentó hasta 55 °C durante cuyo tiempo la mezcla se volvió homogénea y 5-6 N HCl en 2-propanol (2 equiv) se añadió en forma de gotas. La mezcla de reacción se agitó a 55 °C por cuatro horas durante cuyo tiempo se formó una suspensión espesa. El análisis por HPLC indicó que la reacción estaba completa. La lechada resultante se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró lavando con 2-propanol (2 vol). La torta húmeda se secó al vacío a temperatura ambiente para proporcionar 3E [MDM-W-11(3), 6.9 g, 96% de rendimiento, >99.9% en área por HPLC].

E. La reacción en el párrafo D se escaló seis veces y se evaluó mediante calorimetría de reacción (RC1, Mettler-Toledo). Un medidor del flujo de gas se configuró y se calibró para garantizar una medición precisa del desprendimiento de gas. El compuesto 3EPr (56.6 g, 174 mmol) se suspendió en 2-propanol (300 ml) y la lechada se calentó hasta 55 °C durante cuyo tiempo la mezcla se volvió homogénea. Se añadió ácido clorhídrico (1 equiv) en 2-propanol (3.8 M) a través de una bomba de adición a una velocidad lineal durante 30 minutos durante cuyo tiempo se observó un gas de escape y comenzó la precipitación. La reacción se dejó después agitar por 30 minutos antes de añadir ácido clorhídrico (1 equiv) a la misma velocidad. La lechada resultante se agitó por cuatro horas a 55 °C. La lechada se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró lavando con 2-propanol para dar 44.0 g de un sólido amarillo claro después de secar durante el fin de semana a temperatura ambiente al vacío [MDM-W-56(1), 97% de rendimiento, >99.9% en área por HPLC]. Un perfila térmico endotérmico muy ligero se observó dando una entalpía de reacción de -57.8 kJ/mol y un cambio de temperatura adiabático de -9.6 K. La velocidad de desprendimiento de gas fue ligera. La integración de la curva de flujo-masa indicó desprendimiento de 3.9 L de gas durante el experimento. La curva de flujo-masa mostró que la velocidad de desprendimiento de gas se desaceleró casi inmediatamente cuando se discontinuó la adición de HCl lo que sugiere que el desprendimiento de gas fue dosis-controlado razonablemente.

Ejemplo 4

Conversión a 1E (Etapas 3 y 4)

A. Una muestra cruda de 3E preparado en el ejemplo 3 se acomplejó con TFA y reaccionó con benzaldehído y el producto se purificó por cromatografía de columna (2-6% metanol/DCM). Las fracciones que contienen el producto se recogieron y el solvente se eliminó a presión reducida para obtener el compuesto 2 G como un aceite espeso. La ¹H NMR fue consistente con la estructura asignada. Debido a que 2E era un aceite, 3E se convirtió en el compuesto 1E en un método telescópico de dos etapas.

B. A una muestra de 0.6 g de 3E•HCl en 2-propanol se añadió trietilamina (2 equiv) seguido por cloruro de bencilo (1.2 equiv). La suspensión resultante se calentó hasta 50°C cuando se volvió una solución clara. La reacción se monitoreó por HPLC y se evaluó completa después de tres horas.

La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y los sólidos (TEA•sal de HCl) se filtraron. Al filtrado se añadió isoamilamina (10 equiv), y la solución resultante se calentó hasta 75 °C. La reacción se monitoreó por HPLC y se encontró que se sometió a la conversión sólo el 36% después de 48 horas.

C. El procedimiento del párrafo B se llevó a cabo con 3.5 g de 3E•HCl en acetonitrilo (20 ml). La reacción se llevó a cabo con 1.0 equivalente de cloruro de bencilo en presencia de trietilamina (3.0 equiv). La reacción se evaluó completa por análisis por HPLC después de agitar a 50 °C por 4.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y los sólidos se filtraron. El filtrado se bombeó hasta secarse. El residuo se disolvió en isoamilamina (20 ml) y se calentó hasta 90 °C. La reacción se evaluó completa por análisis por HPLC después de 24 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y el solvente se redujo para ajustar el peso del residuo hasta 9.5 g. A esto se añadió heptanos (30 ml), resultando en la formación de una suspensión de color marrón claro. Esto se agitó a temperatura ambiente por una hora y por otra hora en un baño de agua helada. Los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman® y la torta del filtro se lavó con agua fría (2 x 20 ml). El producto se secó en un horno de vacío, resultando en 3.98 g (70% de rendimiento) del compuesto 1E con una pureza por HPLC de >99.9% (AUC @ 226 nm).

D. Alternativamente, a una muestra de 8.0 g de 3E•HCl en acetonitrilo (48 ml, 6 vol) se añadió trietilamina (2.5 equiv) seguido por cloruro de bencilo (1.05 equiv). La suspensión resultante se calentó hasta 50 °C cuando se volvió una solución clara. La reacción se monitoreó por HPLC y se evaluó completa después de 3.5 horas (3.3% de 3E•HCl no reaccionado). La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y los sólidos (TEA•sal de HCl) se filtraron.

El filtrado se evaporó para ajustar el peso de la solución hasta 18 g (≈1:1 acetonitrilo/producto en peso). A esto se añadió isoamilamina (≈4:1 isoamilamina/acetonitrilo, 10 equiv de isoamilamina) y la solución resultante se calentó hasta 85 °C. La reacción se evaluó completa por análisis por HPLC después de 19 horas (3.0% de 2E no reaccionado). La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y el solvente se eliminó a presión reducida para ajustar el peso de la solución hasta 22 g (1 g de solvente por gramo de 1E). Con enfriamiento se obtuvo un sólido húmedo y este se trituró con heptanos (6 g por gramo de 1E). La suspensión se agitó a temperatura ambiente por 16 horas y los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman® y la torta del filtro se lavó con heptanos (20 ml), seguido por agua (2 x 20 ml). El producto se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente para proporcionar 7.78 g (69%

de rendimiento durante dos etapas) de 1E como un sólido marrón claro. La pureza por HPLC fue >99.9% (AUC @ 226 nm).

E. Las Etapas 3 y 4 se realizaron a una escala de 6 g siguiendo el procedimiento que se expuso anteriormente. El compuesto 3E (6.0 g, 22.9 mmol) se suspendió en acetonitrilo (30 ml) y se añadió trietilamina (9.6 ml, 3 equiv) seguido por cloruro de bencilo (2.8 ml, 1.05 equiv). La reacción se calentó hasta 50 °C por 24 horas. El análisis por HPLC a las 20 horas y nuevamente a las 24 horas indicó no más progresión (10.4% de 3E restante) y la reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró para eliminar sales amónicas. La solución se concentró después al vacío hasta aproximadamente dos volúmenes para dar una solución concentrada de 2E crudo (80% en área de pureza cruda). Isoamilamina (26 ml, 10 equiv) se añadió después y la reacción se calentó hasta reflujo (81 °C) por 24 horas. El análisis por HPLC a las 20 horas y nuevamente a las 24 horas indicó no más progresión (73% en área de pureza cruda) y la reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró a presión reducida hasta aproximadamente 4 volúmenes. Después se añadió heptano (35 ml) y la lechada resultante se agitó durante el fin de semana. La lechada delgada se filtró y se lavó con agua en cuyo punto los sólidos se disolvieron y no dejó nada en el embudo del filtro. El filtrado bifásico se extrajo con IPAc y después se concentró hasta un aceite. El aceite se disolvió en IPA (30 ml); agua (36 ml) se añadió lentamente hasta que la solución se volvió ligeramente opaca y después se añadió una pequeña cantidad del Compuesto 1E [DSJ-F-20(15)] para inducir la cristalización. La lechada resultante se filtró lavando con agua y se secó durante la noche al vacío dando 5.46 g del compuesto 1E [MDM-W-26(8), 65% de rendimiento, 99.9% en área por HPLC, 98.6% en peso mediante $^1\text{H NMR}$].

F. La N-bencilación se evaluó a temperaturas en el intervalo de 25 °C a 75 °C para determinar la temperatura óptima para la reacción y su tolerancia térmica.

La velocidad de reacción aumentó con la temperatura, pero todo se aproximó a un punto final común de 95-96% de conversión después de 20 horas independientemente de la temperatura. El análisis por HPLC mostró poca diferencia en la pureza cruda, pero ocurrió un cambio de color notable por encima de 45 °C haciendo la solución de reacción de color naranja claro. Una temperatura de reacción de 45 °C se consideró óptima en términos de velocidad de reacción y disminución del cambio de color y precipitan los despojos.

G. El proceso se enmendó al aumentar la cantidad de cloruro de bencilo hasta 1.1-1.15 equivalentes y al disminuir ligeramente la temperatura de reacción hasta 45 °C para reducir la decoloración. Se incorporó un tratamiento acuoso después de la N-bencilación para eliminar las impurezas generadas durante la reacción de N-bencilación antes de la formación de 1E. El aislamiento del producto se realizó mediante cristalización directa a partir de la mezcla de reacción (isoamilamina) al añadir agua como un antisolvente. La pérdida del producto en el filtrado fue típicamente menor de 7%. 1E se aisló como un sólido blanco con aproximadamente 80% de rendimiento con una pureza muy alta.

Ejemplo 5

Desempeño completo del Esquema 1

A. Una muestra de 50 g de 2-ácido cloronicotínico se trató con *N*-Boc piperazina (1.2 equiv) en presencia de trietilamina (2 equiv) y TBTU (1.4 equiv). La reacción se llevó a cabo en IPAc (300 ml, 6 vol) y a temperatura ambiente. La reacción se evaluó completa por análisis por HPLC después de 12 horas. Después de la filtración y tratamiento acuoso, el extracto IPAc se redujo a 180 g al vacío (\approx 1:1 IPAc/producto en peso).

A la lechada resultante se añadieron heptanos (\approx 1:1 IPAc/producto en peso). La suspensión que resultó se agitó a temperatura ambiente por 16 horas y por otra dos horas en un baño de agua helada. El producto se recogió por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman[®] y la torta del filtro se lavó con heptanos (2 \times 25 ml). El producto se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente para obtener 78.53 g (76% de rendimiento) del compuesto 3EPr como un sólido marrón. La pureza por HPLC fue 98.9% (AUC @ 226 nm).

B. 73.53 g del compuesto 3EPr obtenido en el párrafo A se sometió a la reacción de Boc-desprotección en presencia de 2 equivalentes de 5-6 N HCl en IPA. La reacción se llevó a cabo a 50 °C en IPA (6 vol). La reacción se evaluó completa por análisis por HPLC después de siete horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se filtró a través de un filtro de papel # 1 Whatman[®]. La torta del filtro se lavó con IPA (2 \times 50 ml) y se secó bajo alto vacío para obtener 56.31 g (95% de rendimiento) de 3E-HCl como un sólido marrón. La pureza por HPLC fue >99.9%.

C. Una muestra de 54.0 g de 3E-HCl se trató después con cloruro de bencilo (1.05 equiv) en presencia de trietilamina (3 equiv). La reacción se llevó a cabo a 50 °C en acetonitrilo (6 vol). La reacción se evaluó completa por análisis por HPLC después de ocho horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y los sólidos se filtraron en un filtro de papel # 1 Whatman[®]. La torta del filtro se lavó con acetonitrilo (2 \times 25 ml). El solvente se eliminó a presión reducida para ajustar el peso de la solución hasta 110 g (\approx 1:1 acetonitrilo/producto en peso).

A esto se añadió isoamilamina (220 g) para preparar 4:1 isoamilamina/acetonitrilo. La solución resultante se calentó hasta 85 °C y la reacción se evaluó completa por análisis por HPLC después de 22 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y el solvente se eliminó a presión reducida para ajustar el peso de la solución

hasta 150 g. A la mezcla resultante se añadieron heptanos (6 vol). La suspensión se agitó a temperatura ambiente por 16 horas y los sólidos se recogieron por filtración en un filtro de papel # 1 Whatman® y la torta del filtro se lavó con heptanos (250 ml × 2), seguido por agua (250 ml × 2). El producto se secó en un horno de vacío a temperatura ambiente para proporcionar 60.66 g (80% de rendimiento durante dos etapas) de 1E como un sólido marrón claro. La pureza por HPLC fue >99.9% (AUC @ 226 nm).

Ejemplo 6

Preparación de sal de fosfato

A. Un matraz de fondo redondo de tres cuellos de 22 l equipado con un embudo de adición, un condensador de reflujo, un termopar, y un agitador superior se colocó en una manta de calentamiento. El matraz se cargó con etanol (7.9 l, Pharmco lote # 0802062) seguido por agua desionizada (420 ml). A continuación 1E (700 g, 2.1 mol) se cargó al reactor y la mezcla resultante se calentó hasta 75 °C. Una solución 1 M de H₃PO₄ en etanol (4.5 l, 4.5 mol, 2.1 equiv) se cargó como una corriente rápida durante un periodo de 30 min. La mezcla resultante se agitó por 15 min y 1E·H₃PO₄ (0.5 g) se añadió como semilla para la recristalización. La solución clara resultante se enfrió hasta la temperatura ambiente a una velocidad de 20 °C/h.

La suspensión fría se dejó agitar a temperatura ambiente por 11 h y se filtró a través de un filtro de papel # 1 Whatman®. Se usó etanol (2.8 l × 2) para ayudar en la transferencia y además para lavar la torta del filtro. El producto se secó al vacío hasta un peso constante a 25 °C para obtener 1E·H₃PO₄ como un sólido blanco (751 g, 62% de rendimiento). El análisis por HPLC indicó una pureza de >99.9% (AUC @ 226 nm) y la ¹H NMR fue consistente con la estructura asignada.

B. El Compuesto 1E (4.9 g, 13.3 mmol) se disolvió una 5% mezcla de agua en etanol a 75 °C y después se añadió 1M ácido fosfórico en etanol (2.1 equiv). La solución resultante se enfrió hasta la temperatura ambiente a una velocidad de 20 °C/h durante cuyo tiempo se formó un precipitado pegajoso. La mezcla se volvió a calentar para disolver el precipitado, y después el sistema se sembró con 1E fosfato y se enfrió como se describió anteriormente. La lechada resultante se agitó durante la noche a temperatura ambiente y después se filtró, lavando con etanol para dar 4.9 g de 1E fosfato (79% de rendimiento, >99.9% en área por HPLC) como un sólido blanco. Los resultados indicaron que la siembra fue esencial para establecer la forma de cristal adecuada.

C. Cuatro reacciones de formación de la sal de fosfato se realizaron en una escala de 10 g bajo las siguientes condiciones:

MDM-W-126: 1.25 equivalentes H₃PO₄, 12 volúmenes EtOH
 MDM-W-128: 1.25 equivalentes H₃PO₄, 12 volúmenes 5% de agua en EtOH
 MDM-W-130: 1.0 equivalentes H₃PO₄, 12 volúmenes EtOH
 MDM-W-131: 1.0 equivalentes H₃PO₄, 12 volúmenes 5% agua en EtOH

Cada reacción se calentó hasta 70 °C, se sembró con 1E fosfato [0.1% en peso, DAJ-F-40(2)], y se enfrió hasta 20 °C a una velocidad de 20 °C/hora. La lechada espesa resultante se agitó durante la noche, se filtró (lavando con EtOH), y se secó hasta un peso constante. Los resultados de estas reacciones se muestran en la Tabla 1. En general, la lechada obtenida de las reacciones usando 5% agua en EtOH fue más manejable.

Tabla 1

Tamiz de formación de la sal de fosfato			
Reacción	% de rendimiento	Pureza (% en área)	Potencia (% en peso)*
MDM-W-126	97	>99.9	105
MDM-W-128	95	>99.9	105
MDM-W-130	96	>99.9	102
MMD-W-131	94	>99.9	103

* Potencia relativa al NCSS lote DAJ-F-40(2).

Propiedades físicas de la mono-sal de fosfato

La solubilidad en agua fue >36 mg/ml bajo condiciones ambientales, y la sal fue cristalina por análisis XRPD.

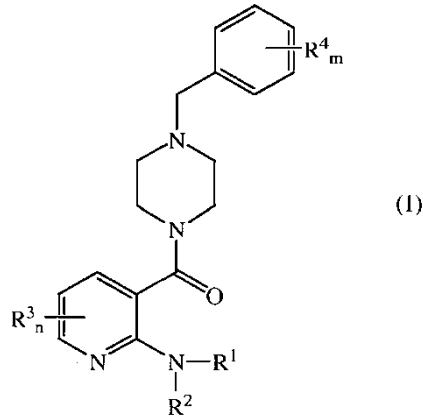
El análisis DSC mostró un evento endotérmico a 179 °C que es consistente con una fusión.

El análisis de sorción de humedad mostró que el material fue moderadamente higroscópico, adsorbiendo 4.4% en peso de agua a 60% HR y 11.2% en peso a 90% HR.

El análisis IC mostró una fórmula (1) para la relación del contra-ion de 1:1.6 a 1:2.3 en diferentes lotes de la sal.

REIVINDICACIONES

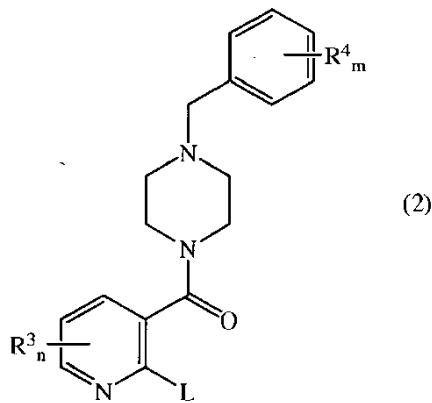
1. Un método para sintetizar un compuesto de la fórmula:



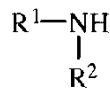
en donde

R¹ es alquilo;
 R² es H o alquilo;
 cada R³ y R⁴ es independientemente alquilo, alquenilo, halo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, NR₂, SR, o OR donde R es alquilo o arilo;
 n es 0, 1 o 2;
 m es 0, 1, 2 o 3;

cuyo método comprende reaccionar un compuesto de la fórmula

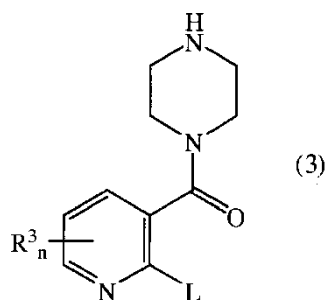


donde R³, R⁴, m y n son como se definen en la fórmula (1) y L es un grupo saliente, con un compuesto de la fórmula

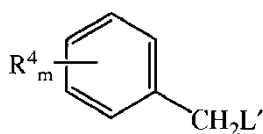


en donde R¹ y R² son como se definen en la fórmula (1);
en donde el alquilo es un radical hidrocarbilo saturado monovalente cíclico de cadena recta o cadena ramificada de hasta 10C.

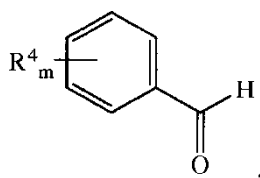
2. El método de la reivindicación 1 en donde el compuesto de la fórmula (2) se prepara reaccionando un compuesto de la fórmula



5 en donde R³ y n son como se definen en la fórmula (1) y L es un grupo saliente, con un compuesto de la fórmula

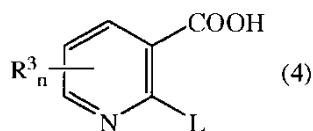


10 en donde R⁴ y m son como se definen en la fórmula (1), y L' es un grupo saliente, o con un compuesto de la fórmula

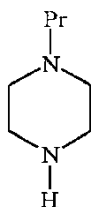


15 para formar una imina seguido por la reducción de dicha imina.

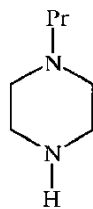
3. El método de la reivindicación 2 en donde el compuesto de la fórmula (3) se obtiene reaccionando un compuesto de la fórmula



20 en donde R³ y n son como se definen en la fórmula (1) y L es un grupo saliente, con un compuesto de la fórmula



25 en donde Pr es un grupo protector, en presencia de un agente de acoplamiento peptídico, seguido por la eliminación del grupo protector; o
 30 por el acoplamiento selectivo del compuesto de la fórmula (4) con piperazina desprotegida; o
 por la conversión del compuesto de la fórmula (4) a cloruro de benzoilo y el acoplamiento del cloruro con el compuesto de la fórmula



seguido por la eliminación del grupo protector.

- 5
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde m y n son 0.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde R³ y/o R⁴ es alquilo.
- 10 6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde L y L' son independientemente halo, OTs o OTf.
7. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde Pr es Boc o Fmoc.
8. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde L y L' son independientemente halo.
- 15 9. El método de la reivindicación 1 que incluye además convertir el compuesto de la Fórmula (1) en una sal farmacéuticamente aceptable.
10. El método de la reivindicación 9 en donde la sal es la sal de fosfato.
- 20

Etapa 1 Diagrama de flujo del proceso

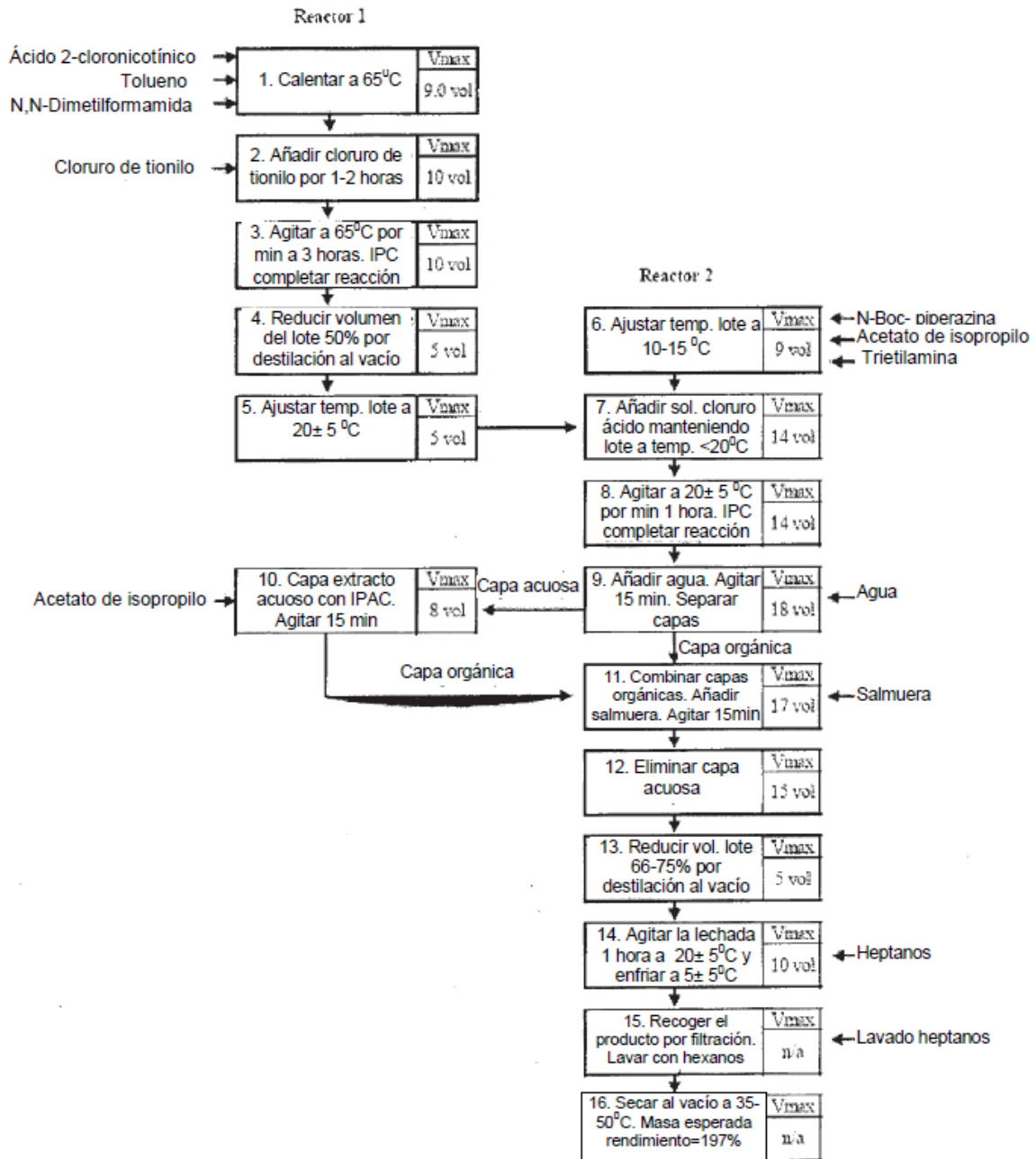


Figura 1

Etapa 2 Diagrama de flujo del proceso

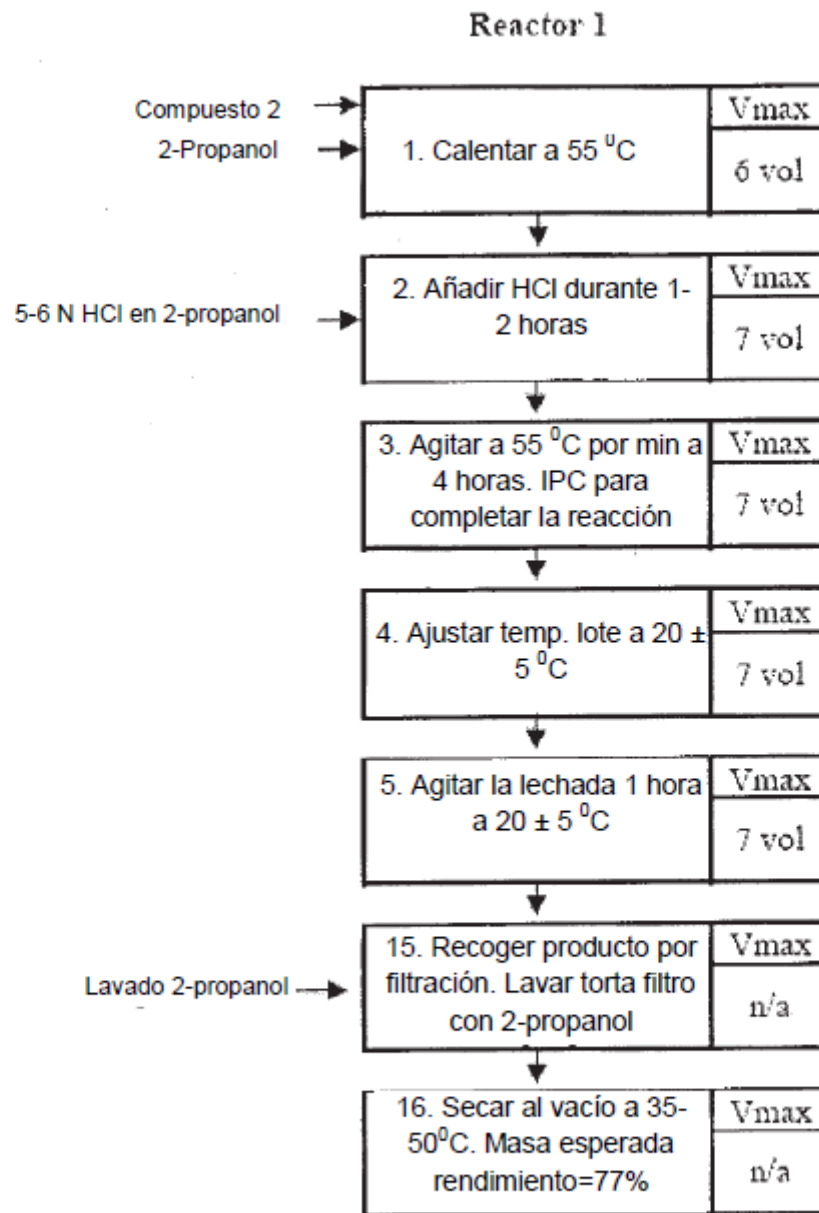


Figura 2

Etapas 3 y 4 Diagrama de flujo del proceso

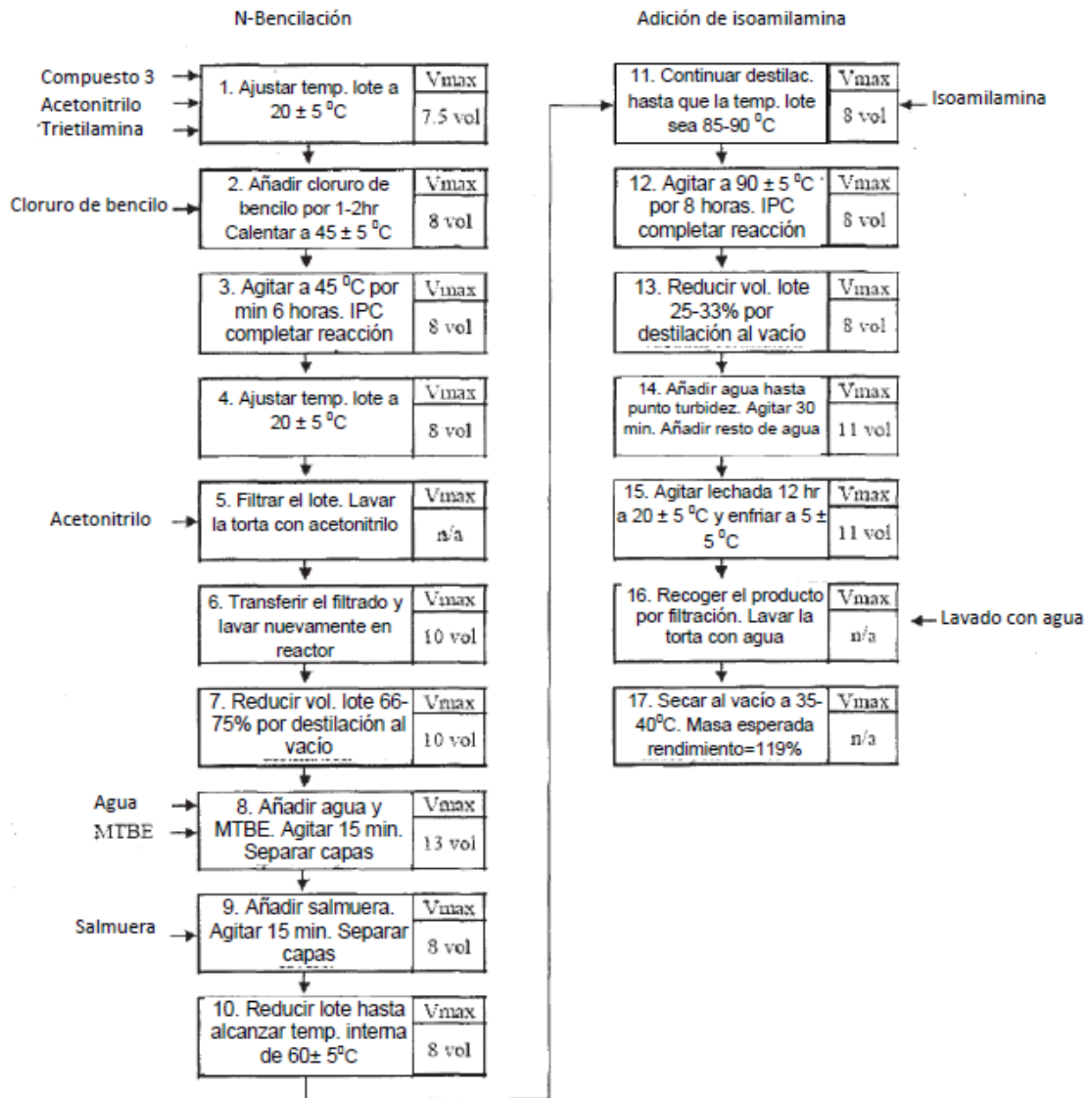


Figura 3

Etapa 5 Diagrama de flujo del proceso

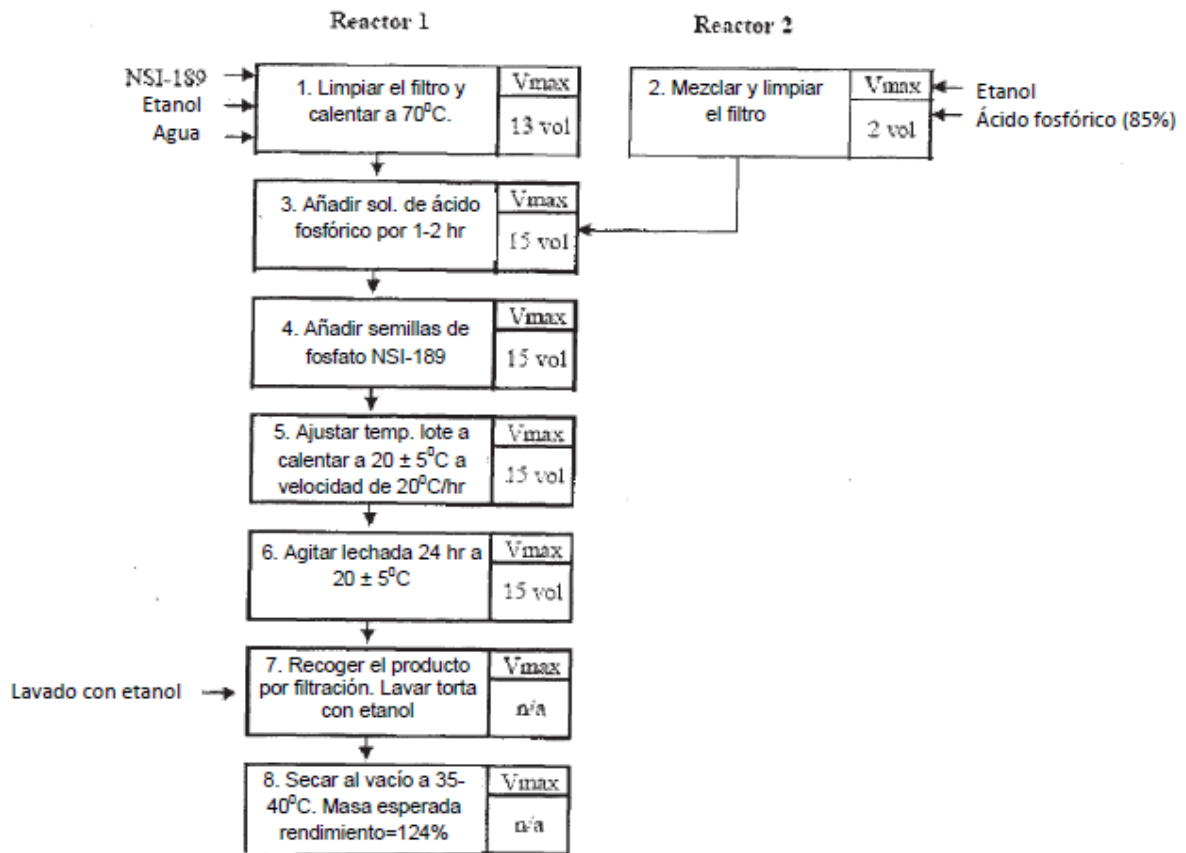


Figura 4