

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 496 447**

51 Int. Cl.:

**C07C 227/18** (2006.01)

**C07C 271/02** (2006.01)

**C07C 321/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.10.2011 E 11779783 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.05.2014 EP 2625161**

54 Título: **Procedimiento de preparación de un aminoácido a partir de 2-aminobutirolactona**

30 Prioridad:

**05.10.2010 FR 1058069**

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

**19.09.2014**

73 Titular/es:

**ADISSEO FRANCE S.A.S. (100.0%)  
Immeuble Antony Parc II 10, place du Général de  
Gaulle  
92160 Antony, FR**

72 Inventor/es:

**HUET, ROBERT;  
JOERGER, JEAN-MICHEL y  
HENRYON, VIVIEN**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 496 447 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

Procedimiento de preparación de un aminoácido a partir de 2-aminobutírolactona.

5 La presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de un aminoácido a partir de la 2-aminobutírolactona (2ABL).

10 Existe una conversión clásica de la 2ABL para dar metionina mediante reacción del metanotiolato de sodio ( $\text{CH}_3\text{SNa}$ ), tal como se describe en Chem. Ber. (1950) 83, 265. Esta síntesis se realiza en una única etapa en tolueno, a  $160^\circ\text{C}$ , durante un periodo de una hora. No obstante, su rendimiento sólo es del 44%.

Según el documento US2008/0146840A1, se conoce un procedimiento de obtención de la metionina a partir de homoserina, que comprende las etapas que consisten en:

- 15 a) efectuar una reacción de N-acilación y ciclación concomitantes de la homoserina,
- b) hacer reaccionar el metilmercaptano con la N-acetamida de 2-aminobutírolactona obtenida en la etapa a), en presencia de un catalizador ácido o básico, para obtener la N-acetamida de metionina, y
- 20 c) hidrolizar la N-acetamida de metionina para dar metionina.

Este procedimiento conduce a rendimientos más elevados, pero presenta el inconveniente de necesitar tres etapas, teniendo que recurrir cada una a la purificación de los productos intermedios formados.

25 Por otro lado, la homoserina es un compuesto muy disponible. Puede obtenerse por vía química. También puede obtenerse mediante fermentación microbiológica de azúcares; existe una extensa bibliografía sobre este asunto. Esta fuente es tanto más atractiva cuanto que se obtiene el isómero L de la homoserina. Tal como muestra la técnica anterior, la etapa de ciclación de la homoserina para dar 2ABL, protegida o no, es eficaz, pero hay que enfrentarse a rendimientos demasiado bajos de la etapa final de conversión para dar metionina o a un procedimiento demasiado pesado, como para considerar una síntesis a gran escala.

30

El documento GB 651 165 A describe (ejemplo 1) un procedimiento de preparación de metionina mediante reacción de la 2-aminobutírolactona (2ABL) con  $\text{MeSNa}$  a  $180^\circ\text{C}$ , seguido por la adición de ácido acético.

35 Los autores de la presente invención han descubierto un grupo protector de la función amina de la 2ABL, así como el reactivo que permite la aplicación, introduciéndose y retirándose fácilmente dicho grupo, y esto de manera reversible. Por tanto han revelado una aplicación principal de la homoserina en la preparación de aminoácidos.

40 La invención proporciona un procedimiento de preparación de un aminoácido, o de sus sales, a partir de la 2-aminobutírolactona (2ABL), respondiendo dicho aminoácido a la fórmula I,  $\text{XCH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH}$ , en la que X es tal que  $\text{X}^-$  representa un ion nucleófilo, que comprende las etapas siguientes:

- realizar la N-carboxilación de la 2-aminobutírolactona (2ABL) mediante dióxido de carbono, y
- 45 - hacer reaccionar el N-carboxilo de la 2ABL así obtenido con un reactivo XH o sus sales, y acidificar.

Tal como ilustrarán los ejemplos, los rendimientos de desprotección hacen posible una síntesis industrial de la metionina a partir de 2ABL. La síntesis industrial de muchos otros aminoácidos, tales como los que responden a la fórmula I anterior, también es concebible. Por aminoácido se entiende cualquier aminoácido que comprende un carbono asimétrico portador de un grupo  $-\text{NH}_2$ , de un grupo  $-\text{COOH}$ , de  $-\text{H}$  y de una cadena lateral de forma  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{X}$ , aportándose X según la invención por el reactivo XH o su sal, o de forma  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Y}$ , en la que Y representa un grupo resultante de una conversión de X, por ejemplo, mediante hidrólisis. A modo de ejemplos preferidos, pueden mencionarse además de la metionina, la selenometionina, la homocisteína y la glutamina. Este procedimiento también permite preparar la homocisteína, obteniéndose ésta con su dímero.

50

55 Al ser asimétrico el carbono portador del grupo amina y del grupo carboxílico, se entiende por aminoácido cada uno de sus isómeros, L- o D-, o sus mezclas y concretamente el racémico. El isómero o la mezcla de isómeros buscado del aminoácido se obtiene partiendo del isómero o de la mezcla de isómeros correspondiente de la 2ABL, y de manera anterior a la homoserina, no afectando el procedimiento objeto de la invención a la configuración de las entidades.

60

Otro objeto de la invención es la N-carboxil-2-aminobutírolactona. Se trata del compuesto intermedio obtenido al final de la etapa de N-carboxilación de la 2ABL. Evidentemente, su aplicación no se limita a esta síntesis.

La reacción de N-carboxilación se realiza de manera ventajosa y sencilla en presencia de un burbujeo de CO<sub>2</sub> gaseoso. Preferentemente, se realiza en un disolvente polar aprótico. A modo de ejemplo, se selecciona de entre el dimetilsulfóxido y la N-metilpirrolidona (NMP). También puede realizarse con CO<sub>2</sub> supercrítico.

5 Esta etapa se lleva a cabo preferentemente a una temperatura comprendida entre 0 y 50°C.

La segunda etapa del procedimiento pone en práctica un reactivo XH o una sal del mismo. X se define de tal manera que X<sup>-</sup> es un ion, constituido por uno o varios átomos, que es nucleófilo. Más específicamente, puede actuar sobre el carbono en beta de la función amina protegida, con el fin de abrir el ciclo de lactona. Comprende un átomo rico en electrones generalmente seleccionado de entre los átomos de azufre, de selenio, de oxígeno, de carbono, estando dicho átomo unido a al menos uno de hidrógeno, un alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, lineal o ramificado, nitrógeno. A modo de ejemplos, X<sup>-</sup> se selecciona de entre CH<sub>3</sub>S<sup>-</sup> y CH<sub>3</sub>Se<sup>-</sup> para obtener la metionina y la selenometionina, respectivamente, de SH<sup>-</sup> y SeH<sup>-</sup> para obtener la homocisteína y el ácido 2-amino-4-SeH-tiobutírico, respectivamente. También puede ser CN<sup>-</sup> para la obtención del ácido 2-amino-4-cianotiobutírico; éste se hidrolizará ventajosamente para dar un grupo amida para conducir a la glutamina.

Las sales de XH se seleccionan ventajosamente de entre las sales metálicas, por ejemplo sales de metales alcalinos y alcalinotérreos.

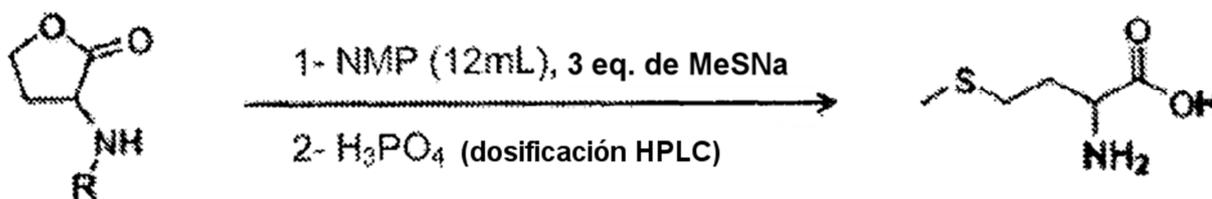
20 La concentración del reactivo XH o su sal está ventajosamente en exceso con respecto a la 2-ABL, representa preferentemente del 3 al 30% en porcentaje en peso/peso de la masa total del medio de reacción. Esta etapa se desarrolla preferentemente a una temperatura que varía entre 100 y 200°C. Ventajosamente, la temperatura es del orden de 130°C.

25 El procedimiento de la invención puede ponerse en práctica durante un periodo que varía de 5 minutos a 3 horas.

Tal como se indicó anteriormente, este procedimiento permite obtener un aminoácido o sus sales. Estas sales se seleccionan ventajosamente de entre las sales de sodio, de litio, de calcio, de zinc. Para obtener una sal, se seleccionará la sal apropiada del reactivo XH.

30 La invención y sus ventajas se ilustran a continuación basándose en los siguientes ejemplos que describen la preparación de metionina según los ejemplos 1 y 2, de la homocisteína y su dímero según el ejemplo 3, y de selenometionina según los ejemplos 4, 5, 6 y 7, a partir de 2ABL.

35 Los ejemplos 1 y 2 describen la preparación de metionina directamente a partir de 2ABL (ejemplo 1) y a partir de 2ABL pasando por el producto intermedio 2ABL N-carboxilada (o carbonatada), es decir según la invención (ejemplo 2), según el siguiente esquema:



1 mmol

R = H : 2-ABL

MTN

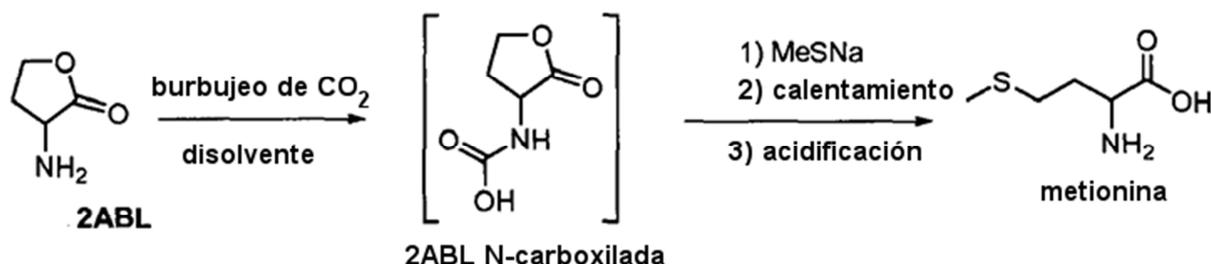
R = COOH : 2-ABL-N-carbonatada

40 **Ejemplo 1: Preparación de metionina directamente a partir de 2ABL**

Se realiza este ensayo a escala de 1 mmol de 2-ABL. Se coloca la 2-ABL en disolución en 1,2 ml de NMP. Se mantiene la agitación a 20°C durante 10 min, después se añaden 10,8 ml de NMP y 3 eq. de MeSNa. Se calienta el medio de reacción, colocado con agitación, a 150°C durante 1 hora. Se hidroliza el medio mediante simple dilución en el disolvente de HPLC.

**Ejemplo 2: Preparación de metionina según la invención**

50 El esquema de reacción es el siguiente:



5 Se reproducen de manera idéntica las condiciones operativas del ejemplo 1, con la única diferencia de que se realiza un burbujeo de CO<sub>2</sub> a 20°C durante 10 min.

En la siguiente tabla 1 se presentan los resultados obtenidos:

Ejemplo	Sustrato	Rendimiento en % (HPLC)		
		Metionina	Dicetopiperazina	Homoserina
1	2ABL	17	19	29
2	2ABL N-carboxilada	80	16	<1

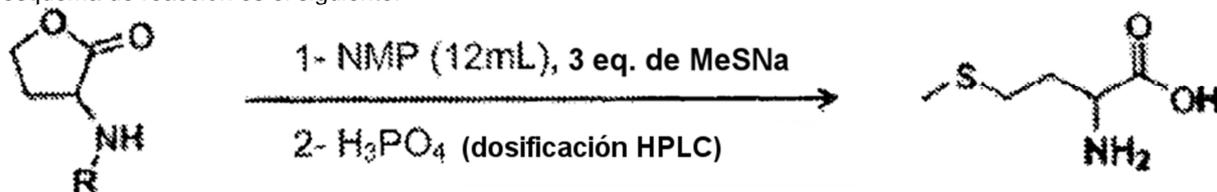
10 Se observa una cuadruplicación del rendimiento en metionina preparada mediante el procedimiento de la invención.

El ejemplo 3 describe la preparación de la homocisteína a partir de 2ABL según la invención.

### Ejemplo 3: Preparación de la homocisteína según la invención

15

El esquema de reacción es el siguiente:



1 mmol

R = H : 2-ABL

R = COOH : 2-ABL-N-carbonatada

MTN

20 El procedimiento de la invención también permite obtener el dímero de la homocisteína (denominado homocistina).

20

Se realiza este ejemplo a escala de 1 mmol de 2ABL en un frasco con agitación magnética. Se coloca la 2-ABL en disolución en 1,2 ml de NMP. Se realiza el burbujeo del CO<sub>2</sub> a 20°C durante 10 min, después se añaden 10,8 ml de NMP y 3 equivalentes de Na<sub>2</sub>S. Se calienta progresivamente el medio de reacción, colocado con agitación, hasta 90°C. Tras 30 min, se hidroliza el medio mediante simple dilución en el disolvente de HPLC.

25

Estas condiciones permiten que se forme la homocisteína y su dímero. Se obtienen los mejores rendimientos a una temperatura de 90°C. Tras un tiempo de reacción de 30 min, se termina la reacción. A una temperatura superior y en presencia de 3 equivalentes de Na<sub>2</sub>S, se favorece la homocistina. El exceso de Na<sub>2</sub>S acelera la dimerización de la homocisteína.

30

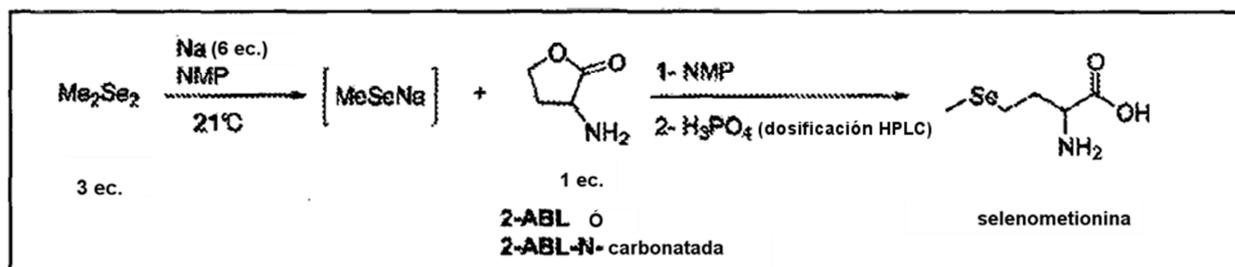
Se obtienen los siguientes rendimientos (HPLC):

Homocisteína	36%
Homocistina	14%
Dicetopiperazina	2%

35

Los ejemplos 4, 5, 6 y 7 describen la preparación de selenometionina directamente a partir de 2ABL (ejemplos 4 y 6) y a partir de 2ABL pasando por el producto intermedio 2ABL N-carboxilada, es decir según la invención (ejemplos 5 y 7), mediante reacción con MeSeNa o MeSeLi.

Según los ejemplos 4 y 5, el esquema es el siguiente:



5

**Ejemplo 4: Preparación de selenometionina directamente a partir de 2ABL**

Se realiza este ejemplo a escala de 50 mg de Na, en un frasco de 4 ml con una agitación magnética a 20°C. Se coloca el  $\text{Me}_2\text{Se}_2$  en disolución en 2 ml de NMP, después a 20°C, se añaden 50 mg de Na. Se coloca la 2-ABL en disolución en 870  $\mu\text{l}$  de NMP. Se mantiene la agitación a 20°C durante 10 min, después se añaden 10,8 ml de NMP y la disolución de  $\text{MeSeNa}$  en NMP. Se calienta el medio de reacción, colocado con agitación, a 90°C durante 1 hora. Se hidroliza el medio de reacción mediante simple dilución en el disolvente de HPLC.

10

**Ejemplo 5: Preparación de selenometionina según la invención**

Se reproducen de manera idéntica las condiciones operativas del ejemplo 4, con la única diferencia de que se realiza un burbujeo de  $\text{CO}_2$ .

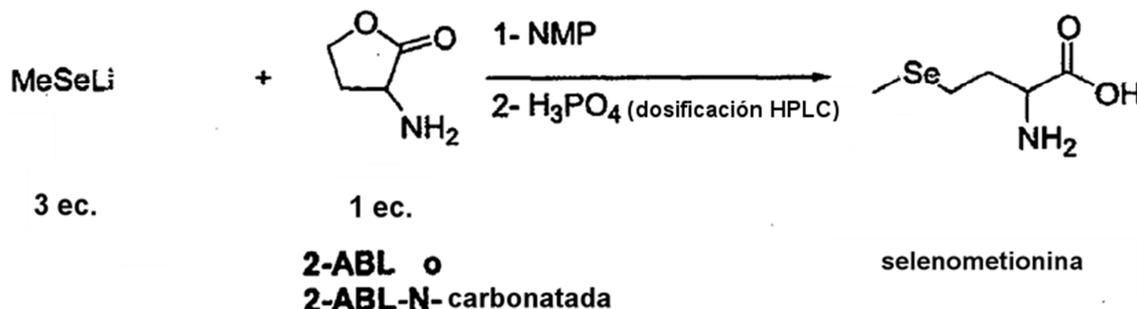
15

En la siguiente tabla 2 se presentan los resultados obtenidos:

20

Ejemplo	Sustrato	Rendimiento en % (HPLC)	
		Selenometionina	Dicetopiperazina
4	2ABL	17	2
5	2ABL N-carboxilada	51	2

Según los ejemplos 6 y 7, el esquema es el siguiente:



25

Se prepara  $\text{MeSeLi}$  según la síntesis descrita en M. Tiecco *et al.*, Synthetic Communications, 1983, 13, 617.

**Ejemplo 6: Preparación de metionina directamente a partir de 2ABL**

Se realiza este ejemplo a escala de 1 mmol de 2ABL en un frasco con una agitación magnética a 20°C. Se coloca la 2-ABL en disolución en 1,2 ml de NMP. Se mantiene la agitación a 20°C durante 10 min, después se añaden 10,8 ml de NMP y 2,43 ml de  $\text{MeSeLi}$  en disolución en THF. Se calienta el medio de reacción, colocado con agitación, durante 1 hora a 60°C. Se hidroliza el medio de reacción mediante simple dilución en el disolvente de HPLC.

30

**Ejemplo 7: Preparación de selenometionina según la invención**

Se reproducen de manera idéntica las condiciones operativas del ejemplo 6, con las únicas diferencias de que se realiza un burbujeo de  $\text{CO}_2$  a 20°C durante 10 min y que se lleva la temperatura de reacción a 90°C.

35

En la siguiente tabla 3 se presentan los resultados obtenidos:

40

Ejemplo	Sustrato	Temperatura (°C)	Rendimiento en % (HPLC)	
			Selenometionina	Dicetopiperazina
6	2ABL	60	60	5
7	2ABL N-carboxilada	90	92	5

5 Del conjunto de estos ejemplos se desprende que el procedimiento constituye una ruta con muy buen rendimiento de obtención de aminoácidos a partir de la 2ABL y por ello un nuevo aprovechamiento interesante de la homoserina.

Se analizó el compuesto intermedio N-carboxil-2-aminobutirrolactona, uno de los objetos de la invención, formado concretamente en los ejemplos 2, 3, 5 y 7. Estos análisis son los siguientes:

10 Espectro de RMN de protón (frecuencia: 250 MHz, disolvente DMSO-d6): 2,16 ppm (multiplete, 1 H), 2,28-2,44 (multiplete, 1 H), 4,08-4,22 (multiplete, 1 H), 4,23-4,38 (multiplete, 2H), 7,25 (doblete, J = 8,2 Hz, 1 H).

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Procedimiento de preparación de un aminoácido, o de sus sales, a partir de la 2-aminobutirrolactona (2ABL), respondiendo dicho aminoácido a la fórmula I,  $XCH_2CH_2CHNH_2COOH$ , en la que X es tal que  $X^-$  representa un ion nucleófilo, caracterizado por que comprende las etapas siguientes:
- realizar la N-carboxilación de la 2-aminobutirrolactona (2ABL) mediante dióxido de carbono, y
- 10 hacer reaccionar el N-carboxilo de la 2ABL obtenido de este modo con un reactivo XH o sus sales y acidificar.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, caracterizado por que  $X^-$  se selecciona de entre  $CH_3S^-$ ,  $CH_3Se^-$ ,  $SH^-$ ,  $SeH^-$ ,  $CN^-$ .
- 15 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que se obtiene un aminoácido seleccionado de entre la metionina y la selenometionina.
4. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, caracterizado por que se obtiene la homocisteína y su dímero.
- 20 5. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por que se realiza la N-carboxilación en un disolvente polar aprótico.
6. Procedimiento según la reivindicación 5, caracterizado por que el disolvente se selecciona de entre el dimetilsulfóxido y la N-metilpirrolidona.
- 25 7. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por que se prepara el isómero L del aminoácido, el isómero D o las mezclas de los mismos y en particular el racémico, a partir de la forma correspondiente de la 2ABL.
- 30 8. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por que la 2ABL se obtiene a partir de la homoserina.
9. Procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado por que la homoserina es el isómero L y se obtiene mediante fermentación microbiológica de azúcares de origen natural.
- 35 10. Procedimiento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizado por que las sales del aminoácido se seleccionan de entre las sales de sodio, de litio, de calcio, de zinc.
11. N-Carboxil-2-aminobutirrolactona y sus sales.