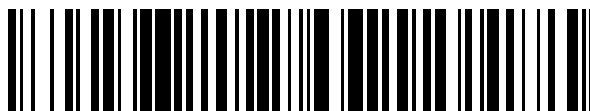


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 627 926**

51 Int. Cl.:

C07F 5/02

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2013** E 13190441 (9)

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2017** EP 2865683

64 Título: **Compuesto para preparar 4-(¹⁰B) boro -L-fenilalanina**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.08.2017

73 Titular/es:

TAIWAN BIOTECH CO., LTD. (100.0%)
22, Chieh-Shou Road
Taoyuan City, Tao Yuan Hsien, TW

72 Inventor/es:

SHEU, KUEN-WANG;
HUANG, SHU-FEN y
SHAW, CHIA-CHENG

74 Agente/Representante:

DE PABLOS RIBA, Juan Ramón

ES 2 627 926 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).

COMPUESTO PARA PREPARAR 4-(¹⁰B)BORO-L-FENILALANINA

Descripción

5 1. Campo de la invención

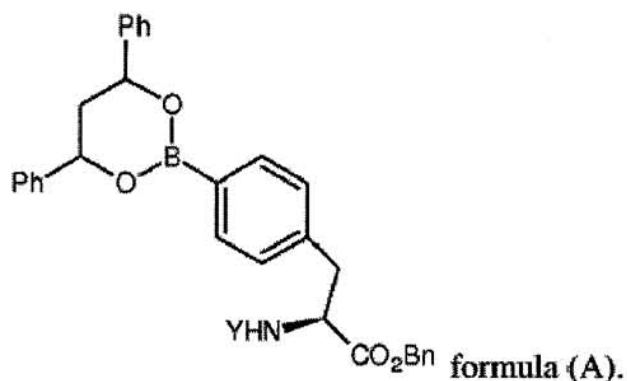
La presente invención está relacionada con un compuesto para preparar 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina (L-¹⁰BPA), particularmente con un compuesto para preparar L-¹⁰BPA con alta pureza isotópica y alta pureza óptica.

10

2. Descripción del estado de la técnica

El 4-boro-L-Fenilalanina (L-BPA) es un importante compuesto borado conocido por su utilidad para el tratamiento del cáncer a través de la terapia por captura neutrónica de boro (*boron neutron capture therapy*, BNCT). Además, el boro-10(¹⁰B) presente en el L-BPA es conocido como el factor crítico que se acumula en las células tumorales y que se irradia posteriormente con neutrones térmicos. Por consiguiente, el ¹⁰B hace que el L-BPA sea un tratamiento del cáncer a través de la terapia por captura neutrónica de boro (BNCT). Sin embargo, el boro natural está formado por un 19,9% del isótopo ¹⁰B y por un 20 80,1% del isótopo ¹¹B. Por lo tanto, muchos investigadores han estado desarrollando procedimientos y compuestos sintéticos apropiados para producir boro enriquecido en ¹⁰B L-BPA.

No obstante, la mayoría de procedimientos y compuestos sintéticos convencionales no se 25 pueden emplear para producir 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina (L-¹⁰BPA), sino que sólo se pueden emplear para producir 4-boro-L-fenilalanina (L-BPA). Por ejemplo, la patente de EE.UU. nº 6.031.127 divulga un procedimiento y una sustancia intermedia para preparar 4-boro-L-fenilalanina (L-BPA), donde la sustancia intermedia es la fórmula (A):



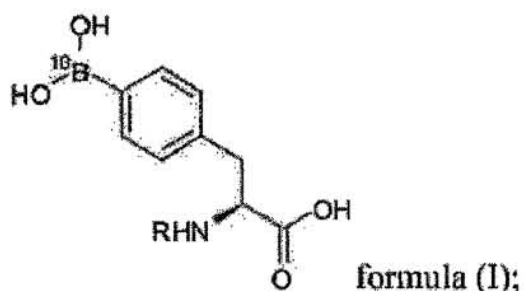
De acuerdo con dicha divulgación, la fuente de boro para producir la sustancia intermedia es bis(pinacolato)diboro y 4,4',6,6'-tetrafenil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborinane), la cual no está disponible por medios comerciales, además de ser de difícil preparación ya que proviene de la reacción del diboro con propanodiolos. Por lo tanto, la preparación de dicha divulgación es difícil y conlleva mucho tiempo.

La revista científica *Bioorganic & Medicinal Chemistry* (Química Bioorgánica y Médica), 15 (2007) 2198-2205, divulga una mezcla racémica de 4-(boro-¹⁰B)-N-[(1,1-dimetiltoxi)carbonilo]-2-(trifluorometil)-L-fenilalanina usado para la preparación de derivados del 4-(¹⁰B) boro-L-fenilalanina. La revista científica *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 14 (2006) 3258-3262 asimismo divulga una mezcla racémica de N^α-tert-Butoxicarbonilo-β-[4-(¹⁰B)boro-2,6-difluorofenil]alanina. Ambas mezclas no son enantioméricamente puras, por lo que no se pueden emplear para tratar el cáncer mediante BNCT. Para hacer frente a estas limitaciones, la presente invención proporciona un compuesto para preparar 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina con el fin de mitigar u obviar los problemas mencionados anteriormente.

En vista de los inconvenientes mencionados del estado de la técnica, tales como las dificultades para preparar L-¹⁰BPA, la necesidad de hidrogenación para producir 4-boro-L-fenilalanina, y el hecho de que por consiguiente no se pueda emplear para producir boro enriquecido en ¹⁰B L-BPA, uno de los objetivos de la presente invención es proporcionar un compuesto para preparar 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina de manera simple sin necesitar de la tarea tediosa que supone la hidrogenación. Por lo tanto, el compuesto de la presente invención se puede emplear para preparar 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina, y el 4-(¹⁰B)boro-L-

fenilalanina que se obtiene tiene alta pureza isotópica y alta pureza óptica.

Para lograr el objetivo mencionado anteriormente, el compuesto para preparar 4-¹⁰B)boro-L-fenilalanina de acuerdo a la presente invención es el de la fórmula (I):



5 en la que el grupo R representa un grupo de protección y se selecciona del grupo que consiste en: un grupo *tert*-butoxicarbonilo (t-Boc), un grupo tritilo (Trt), un grupo 3,5-dimetoxifenilisopropoxicarbonilo (Ddz), un grupo 2-(4-Bifenilo)isopropoxicarbonilo y un grupo 2-nitrofenilsulfenilo (Nps), y el compuesto tiene una pureza de ¹⁰B superior o igual al 98%.

10

La presente invención proporciona un compuesto novedoso para preparar 4-¹⁰B)boro-L-fenilalanina, particularmente para un compuesto que es fácil de preparar, dado que los materiales de partida de los que proviene están disponibles de manera comercial. Además, el compuesto de la presente invención tiene alta pureza isotópica, i.e., pureza de ¹⁰B, así como alta pureza óptica. Además, el compuesto de acuerdo a la presente invención produce 4-¹⁰B)boro-L-fenilalanina mediante un simple paso de desprotección tal como el paso de desprotección ácida, por lo que el 4-¹⁰B)boro-L-fenilalanina que se obtiene tiene alta pureza isotópica y alta pureza óptica. Por consiguiente, el compuesto se puede emplear para preparar 4-¹⁰B)boro-L-fenilalanina.

20

Preferiblemente, el compuesto tiene un exceso enantiomérico superior o igual al 99%.

Preferiblemente, el grupo R es un grupo *tert*-butoxicarbonilo (t-Boc).

25

Otros objetivos, ventajas y nuevas características de la invención se harán más evidentes en la descripción detallada que viene a continuación cuando se toma en conjunto con las

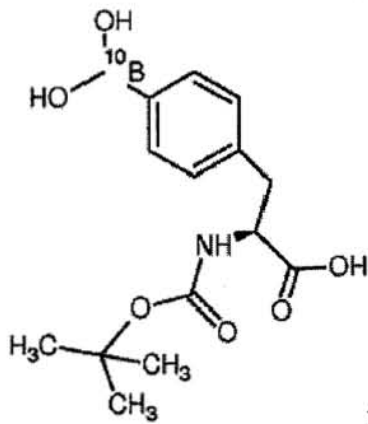
estructuras adjuntas.

La presente invención da soluciones para resolver los problemas de los procedimientos convencionales para preparar 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina. Se proporciona un compuesto
 5 para preparar 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina a partir de (S)-N-Boc-4-yodofenilalanina como una realización preferente para ilustrar, pero no limitar, el ámbito de la presente invención.

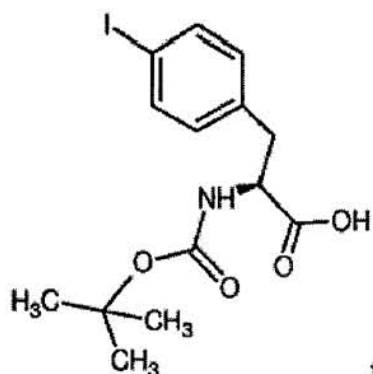
Para comprender mejor las características técnicas de la presente invención y sus efectos, así como para su aplicación de acuerdo a las divulgaciones de la especificación,
 10 la realización preferente, los detalles se describen de manera más extensa a continuación.

Realización 1

Preparación de (S)-N-Boc-4-(¹⁰B) borofenilalanina de la fórmula (a) a partir de (S)-N-
 15 **Boc-4-yodofenilalanina de la fórmula (b)**



formula (a);



Se ha usado un matraz de tres cuellos de 3L de capacidad provisto de un agitador mecánico, un termómetro, y un adaptador de entrada de nitrógeno cerrado con un septum de goma. Se ha colocado en el matraz 2-metiltetrahidrofurano (750 ml), seguido de (S)-N-Boc-4-yodofenilalanina (50,0 g, 100% puro, 128 mmol), y se ha agitado hasta formar una solución. Después, se ha añadido borato-¹⁰B de tributilo (99% de pureza de ¹⁰B, 106 ml, 90,1g, 393 mmol) para formar una solución mixta. La solución mixta se ha enfriado a una temperatura que iba desde los -76 °C hasta los -85°C, y se ha añadido gota a gota n-butilitio (1,6 M en hexanos, 375 ml, 600 mmol) a la solución mixta por más de 3 horas para formar una mezcla de reacción. Después de añadir esto, la mezcla de reacción se ha agitado durante 0,5 hora más a -80 °C. El análisis HPLC de una muestra templada de la mezcla de reacción ha mostrado que la cantidad del material de partida (S)-N-Boc-4-yodofenilalanina era menor del 0,5%. La mezcla de reacción se ha templado poco a poco con 900 ml de agua fría de 15 a 20 minutos, y después se ha dejado que la mezcla cogiera una temperatura que fuese desde los 5°C hasta los 10°C. La mezcla resultante se ha filtrado para eliminar cualquier sólido insoluble. Además, se han utilizado 100ml de agua para el transvase y el aclarado. El filtrado obtenido se ha transvasado a un embudo de decantación para separar las fases. La fase acuosa inferior básica se ha separado para obtener una primera capa acuosa. La primera fase acuosa se ha extraído con alcohol isobutílico y después se ha separado del alcohol isobutílico para obtener una segunda fase acuosa.

El valor del pH de la segunda fase acuosa se ha ajustado de 3 a 4 usando un 37% de ácido clorhídrico a una temperatura que iba desde los 20°C hasta los 25°C. El producto (S)-N-Boc-4-(¹⁰B) borofenilalanina empezó a precipitar durante este periodo. La mezcla de la segunda fase acuosa se ha agitado durante 30 minutos, y posteriormente el valor del

- pH de la mezcla de la segunda fase acuosa se ha ajustado a 3.0. Después la mezcla de la segunda fase acuosa se ha agitado otras 2 horas más. La mezcla de la segunda fase acuosa se ha filtrado para obtener (S)-N-Boc-4-(¹⁰B) borofenilalanina sólido, el cual se ha lavado posteriormente dos veces con agua y se ha secado en una estufa de vacío a 50°C durante un mínimo de 4 horas hasta un límite de detección de menos de un 0,5% para alcanzar 25,8 g de (S)-N-Boc-4-(¹⁰B) borofenilalanina como sólido blanco, que según ha determinado el análisis HPLC ha sido 99,6% puro en ¹⁰B. El rendimiento se situó en 65,1%.
- 10 La temperatura de fusión, la rotación específica, los datos de RMN de ¹H, los datos de RMN de ¹³C, los datos de IR y los datos de MS del (S)-N-Boc-4-(¹⁰B) borofenilalanina obtenido son los siguientes:

Temperatura de fusión: 150°C (descomposición);

$[\alpha]_D^{25} : +14^{\circ} (c=0.5, \text{MeOH}) ;$

¹H RMN: (500 MHz, DMSO-d₆): δ 8.0 (s, 2H), 7.7 (d, J = 7.7 Hz, 2H), 7.2 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 7.0 (d, J = 8.4 Hz, 2H), 4.1 (m, 1H), 3.0 (dd, J = 13.8, 4.5 Hz, 1H), 2.8 (dd, J = 13.7, 10.3 Hz, 1H), 1.3 (s, 9H);

- ¹³C RMN (125 MHz, DMSO-d₆) δ 173.63, 155.48, 139.96, 134.06, 131.94, 128.18, 78.13, 55.06, 36.53, 28.19;
- 20

IR (KBr) ν_{max} : 3331, 2979, 1717, 1689, 1537, 1399, 1372, 1365, 1285, 1165, 1045 cm⁻¹;

y

HRMS (ESI): calculado para C₁₄H₂₀¹⁰BNO₆ [M-H]⁻ 307.1420, encontrado: 307.1333.

- Preparación de 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina (L-(¹⁰B)BPA) a partir de (S)-N-Boc-4-(¹⁰B)borofenilalanina**
- 25

- Una suspensión de (S)-N-Boc-4-(¹⁰B) borofenilalanina (20,5g, 99,6% puro en ¹⁰B, 66,2 mmol) en una mezcla de acetona (122 ml) y agua (14ml) se ha agitado a temperatura ambiente y se ha añadido con ácido clorhídrico (37%, 13,9 14 ml) para formar una mezcla ácida, y esta mezcla ácida se ha agitado a 55°C de 1,5 a 2 horas. El análisis HPLC de la mezcla ácida mostró que la reacción había finalizado. La temperatura de la mezcla ácida se ha enfriado a temperatura ambiente y el valor del pH de la mezcla ácida se ha ajustado
- 30

a 1,5 usando una solución acuosa de hidróxido sódico. El 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina empezó a precipitar durante este periodo y la mezcla ácida se agitó durante 50 minutos. El valor del pH de la mezcla ácida se ha reajustado a 6,2 usando una solución acuosa de hidróxido sódico, y la mezcla se ha agitado durante un mínimo de 25 minutos a
 5 temperatura ambiente. La mezcla ácida se ha filtrado para obtener 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina sólido. El 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina sólido se ha lavado con un 50% de acetona acuosa, seguido de un aclarado con acetona, y se ha secado en una estufa de vacío a 80°C durante un mínimo de 6 horas a un peso constante para alcanzar 13,3g (rendimiento del 95,2%) de 4-(¹⁰B)boro-L-fenilalanina con un 99,9% de pureza como los
 10 cristales blancos, y se ha analizado con el análisis enantiomérico HPLC, el cual indicó que la proporción de los isómeros L a D fue de 100 a 0 (100% de exceso enantiomérico).

La temperatura de fusión, la rotación específica, los datos de RMN de ¹H, los datos de RMN de ¹³C, los datos de IR, los datos de ICP-MS y los datos de HRMS del L-(¹⁰B) BPA
 15 obtenido son los siguientes.

Temperatura de fusión: de 275°C a 280°C (descomposición);

$[\alpha]_D^{25} : -5,4^\circ$ (c=0.5, 1M HCl);

¹H RMN (500 MHz, D₂O, CF₃COOD): δ 7.2 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 6.8 (d, J = 8.0 Hz, 2H), 3.9 (dd, J = 7.8, 5.7 Hz, 1H), 2.8 (dd, J = 14.6, 5.6 Hz, 1H), 2.7 (dd, J = 14.6, 7.9 Hz, 1H);

¹³C RMN: (125 MHz, D₂O, CF₃COOD): δ 171.80, 137.31, 135.16, 132.37, 129.65, 54.64, 36.32;

IR(KBr)_{v_{max}}: 3585, 3148, 3038, 2923, 1636, 1610, 1507, 1410, 1398, 1345, 1085, 716 cm⁻¹.

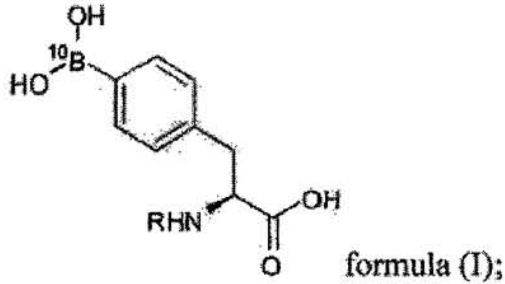
Las medidas de la ICP-MS para el contenido de ¹⁰B es superior al 99,4 (w/w %), en el que se compara ¹⁰B con ¹¹B; y

HRMS (ESI): calculado para C₉H₁₃¹⁰BNO₄, [M+H]⁺ 209.0974, encontrado: 209.0970.

Aunque se han descrito numerosas características y ventajas de la presente invención
 20 en la descripción anterior, junto con detalles de la estructura y función de la invención, la divulgación es solamente ilustrativa.

Reivindicaciones

1. Un compuesto para preparar 4-(^{10}B)boro-L-fenilalanina, **caracterizado por que el compuesto está representado por la siguiente fórmula (I):**



5

en la que el grupo R es seleccionado del grupo que consiste en: un grupo *tert*-butoxicarbonilo (t-Boc), un grupo tritilo (Trt), un grupo 3,5-dimetoxifenilisopropoxicarbonilo (Ddz), un grupo 2-(4-Bifenilo)isopropoxicarbonilo y un grupo 2-nitrofenilsulfenilo(Nps), y el compuesto tiene una pureza de ^{10}B superior o igual al 98%,
 10 y en la que el compuesto tiene un exceso enantiomérico superior o igual al 99%.

2. El compuesto de acuerdo a la reivindicación número 1, en la que el grupo R es un grupo *tert*-butoxicarbonilo (t-Boc).

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

La lista de las referencias citadas por el solicitante es únicamente para conveniencia del lector. Esta lista no forma parte de los documentos de patente europeo. A pesar de haber tenido cuidado en la recopilación de las referencias, no se puede descartar la existencia de errores u omisiones y la OEP no asume ninguna responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- US 6031127 A

Bibliografía distinta de la de patentes citada en la descripción

- *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2007, vol. 15, 2198-2205
- *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2006, vol. 14, 3258-3262