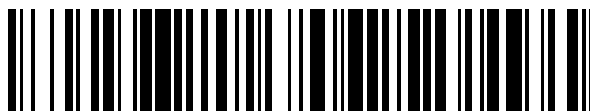


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 670 854**

51 Int. Cl.:

C07D 209/42 (2006.01)

C07K 5/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.10.2013** **PCT/IB2013/059112**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.04.2014** **WO14057404**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.10.2013** **E 13845500 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.03.2018** **EP 2906536**

54 Título: **Un proceso mejorado para la preparación de perindopril intermedio**

30 Prioridad:

10.10.2012 IN 2961MU2012

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

01.06.2018

73 Titular/es:

PIRAMAL ENTERPRISES LIMITED (100.0%)
Piramal Tower Ganpatrao Kadam Marg Lower
Parel
Mumbai 400 013, IN

72 Inventor/es:

WAGH, GANESH;
JAGTAP, ASHUTOSH;
ROY, MITA y
HARIHARAN, SIVARAMAKRISHNAN

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 670 854 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).

Un proceso mejorado para la preparación de perindopril intermedio

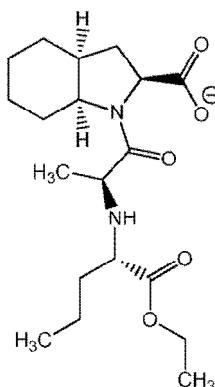
Descripción

5 Campo de la invención

[0001] La presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un intermedio clave que se utiliza en la síntesis de ácido (2S, 3aS, 7aS)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(etoxicarbonilo)butilo]amino]-1-oxopropilo]octahidro-1H-indol-2-carboxílico (Perindopril o el compuesto de fórmula I) y su sal farmacéuticamente aceptable, particularmente sal de tert-butilamina (Erbumina de perindopril). Más particularmente, la presente invención se refiere a un proceso para la preparación de éster de bencilo del ácido (2S, 3aS, 7aS)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(etoxicarbonilo)butilo]amino]-1-oxopropilo]octahidro-1H-indol-2-carboxílico (el compuesto de fórmula II), el intermedio clave para la síntesis del compuesto de fórmula I (perindopril) y su sal de terc-butilamina (Erbumina de perindopril).

15 Antecedentes de la invención

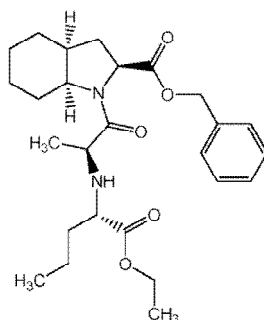
[0002] Perindopril, ácido (2S, 3aS, 7aS)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(etoxicarbonilo)butilo]amino]-1-oxopropilo]octahidro-1H-indol-2-carboxílico se representa por la siguiente fórmula I (en lo sucesivo denominado "el compuesto de fórmula I").



Formula I

[0003] Perindopril y su sal de terc-butilamina (Erbumina de perindopril) son inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina de acción prolongada (inhibidor de la ECA). Perindopril se usa para tratar la hipertensión, insuficiencia cardíaca o enfermedad arterial coronaria estable. Perindopril es la forma de ácido libre de erbumina de perindopril. El Perindopril es un profármaco que se metaboliza *in vivo* por hidrólisis del grupo éster para formar perindoprilato, un metabolito biológicamente activo. Se cree que el mecanismo a través del cual el perindoprilato disminuye la presión sanguínea se debe principalmente a la inhibición de la actividad de ACE. La ACE es una dipeptidasa de peptidilo que cataliza la conversión de la decapeptida inactiva, angiotensina I, en el vasoconstrictor, angiotensina II. La inhibición de la ECA da como resultado una disminución de la angiotensina II plasmática, lo que conduce a una disminución de la vasoconstricción, un aumento de la actividad de la renina plasmática y una disminución de la secreción de aldosterona. Erbumina de perindopril se comercializa con la marca Aceon®.

[0004] Éster de bencilo de ácido (2S, 3aS, 7aS)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(etoxicarbonilo)butilo]amino]-1-oxopropilo]octahidro-1H-indol-2-carboxílico (de aquí en adelante denominado "el compuesto de fórmula II") es un intermedio clave usado para la síntesis del compuesto de fórmula I (perindopril) y su sal de terc-butilamina.



Formula II

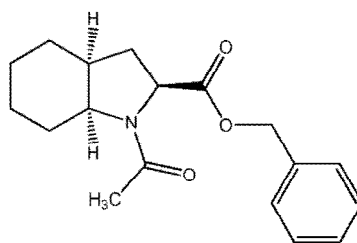
[0005] Un procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula II se describe en la Patente de Estados Unidos Nº 4914214. Este proceso implica la reacción de éster de fenilmetilo de ácido (2S, 3aS, 7aS)-octahidro-1H-indol-2-carboxílico 4 -metilbencenosulfonato (en lo sucesivo denominado "el compuesto de fórmula III") con N-[(S)-etoxicarbonilo-1-butilo]-(S)-alanina (en lo sucesivo denominado "el compuesto de fórmula IV") usando trietilamina, diciclohexilcarbodiimida (DCC) y 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) en presencia de acetato de etilo como disolvente durante 3 horas. Una vez completada la reacción, se precipita diciclohexilurea (DCU) como subproducto, que luego se filtra. El filtrado luego se recoge y se lava con agua y luego se evapora a sequedad para producir el compuesto de fórmula II. El compuesto de fórmula II se desbencila más para dar el compuesto de fórmula I que se convierte adicionalmente en su sal de terc-butilamina. El proceso descrito en dicha patente implica el uso de acetato de etilo como disolvente. El uso de acetato de etilo como disolvente genera una impureza principal a saber (éster bencílico del ácido (2S, 3aS, 7aS)-1-acetilo-hidroxi-1H-indol-2-carboxílico. El uso adicional de diciclohexilcarbodiimida (DCC) conduce a la formación de diciclohexilurea (DCU) como subproducto. Sin embargo, debido al uso de acetato de etilo como disolvente, el subproducto tal como se forma no se elimina por completo.

[0006] Patente de EE. UU. nº 7279583 describe un proceso para la preparación del compuesto de fórmula II que comprende la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usando trietilamina y hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-bis-(tetrametileno)uronio en presencia de acetato de etilo como disolvente. La mezcla heterogénea resultante se calienta a una temperatura de 30°C durante 3 horas y luego se enfría a una temperatura de 0°C. La mezcla de reacción luego se filtra y el filtrado como se obtiene se evapora a sequedad para producir el compuesto de fórmula II.

[0007] Solicitud de patente PCT nº WO2008/114270 describe un proceso para la preparación del compuesto de fórmula II que comprende la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usando trietilamina, 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) y diciclohexilcarbodiimida (DCC) en presencia de acetato de isopropilo como disolvente a una temperatura de 25°C. La mezcla de reacción resultante se enfría después a una temperatura de 5°C a 10°C para precipitar un subproducto, a saber, diciclohexilurea (DCU). El subproducto precipitado se filtra luego. El filtrado luego se recoge y se lava con agua y luego se evapora a sequedad para producir el compuesto de fórmula II.

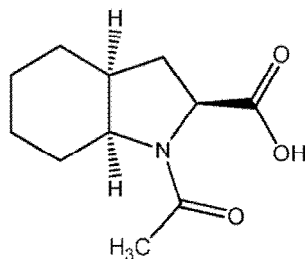
[0008] Patente india nº 231512 describe un proceso para la preparación del compuesto de fórmula II que comprende la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usando trietilamina, 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) y diciclohexilcarbodiimida (DCC) en presencia de otro disolvente inerte que acetato de etilo tal como cloruro de metileno, cloroformo, acetónitrilo, N,N-dimetilformamida y ciclohexano para obtener la masa heterogénea, que luego se agita a una temperatura de 20°C a 25°C. Una vez completada la reacción, se precipita el subproducto diciclohexilurea (DCU). El subproducto precipitado se filtra y el filtrado se destila al vacío para obtener el compuesto bruto de fórmula II. Este compuesto bruto de fórmula II contiene trazas de diciclohexilurea (DCU) que se eliminan mediante purificación adicional en éter de diisopropilo. El proceso descrito en dicha patente implica la purificación del compuesto de fórmula II. Por lo tanto, el proceso implica numerosos pasos y un largo tiempo de reacción que hace que el proceso sea más costoso e industrialmente inviable.

[0009] En resumen, los procedimientos para la preparación del compuesto de fórmula II como se describe en la técnica anterior utilizan principalmente acetato de etilo como un disolvente que implicó la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV. El uso de acetato de etilo como disolvente de reacción genera una impureza, es decir, éster bencílico de ácido (2S, 3aS, 7aS)-1-acetiloctahidro-1H-indol-2-carboxílico de fórmula V (denominada en lo sucesivo "impureza de N-acetilo").



Formula V

[0010] La presencia de acetato de etilo en la mezcla de reacción actúa como un agente acilante para formar la impureza N-acetilo. La eliminación de la impureza de N-acetilo por el método de purificación es muy difícil ya que dicha impureza y el compuesto de fórmula II son similares con respecto a sus propiedades. También es difícil eliminar dicha impureza cuando el compuesto de fórmula II se desbencila para dar el compuesto de fórmula I porque durante la desbencilación del compuesto de fórmula II, dicha impureza de N-acetilo también se desbencila para dar el correspondiente ácido N-acetilo(2S, 3aS, 7aS)octahidroindol-2-carboxílico de fórmula VI, como una impureza.



Formula VI

[0011] Además durante la formación de la sal del compuesto de fórmula I con terc-butilamina para formar erbumina de perindopril, el compuesto de fórmula VI invariablemente permanece contaminado con el producto, erbumina de perindopril. Por lo tanto, es difícil eliminar la impureza de N-acetilo por el método de purificación. Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar un proceso mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II que evite la formación de impurezas de N-acetilo.

[0012] Otro inconveniente importante de los procesos de la técnica anterior para la preparación del compuesto de fórmula II implica la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV es que el subproducto de urea de dicitohexilo (DCU) no se elimina completamente. El proceso para la preparación del compuesto de fórmula II que implica la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usa dicitohexilcarbodiimida (DCC) como reactivo que reacciona con el compuesto de fórmula IV dando como resultado la formación de dicitohexilurea (DCU) como un subproducto. Este subproducto que se forma en la mezcla de reacción se debe filtrar. El filtrado tal como se obtiene se concentra luego para dar el compuesto de fórmula II. Sin embargo, en la condición de reacción dada, las trazas de dicitohexilurea (DCU) continúan permaneciendo en el filtrado. Este filtrado se concentra adicionalmente para dar el compuesto de fórmula II que tiene trazas de dicitohexilurea (DCU). El proceso descrito en la técnica anterior requiere una purificación adicional del compuesto de fórmula II usando éter de diisopropilo o ciclohexano o la mezcla de los mismos para la eliminación de dicitohexilurea (DCU). Por lo tanto, se requiere un paso de purificación adicional para eliminar las trazas de dicitohexilurea (DCU). Por lo tanto, existe la necesidad de desarrollar un proceso mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II para evitar etapas adicionales de purificación para la eliminación del subproducto, dicitohexilurea (DCU), haciendo de este modo que el proceso sea viable industrialmente.

[0013] Los inventores de la presente invención han encontrado ahora que el compuesto de fórmula II libre de las impurezas a saber impurezas N-acetilo y dicitohexilurea (DCU) se puede obtener con un buen rendimiento y pureza mejorada a través de un procedimiento mejorado que implica la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV en tolueno como disolvente de reacción.

Objetos de la invención

[0014] Un objeto de la presente invención consiste en proporcionar un procedimiento mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II (como se describe en este documento) que comprende hacer reaccionar el compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usando tolueno como disolvente de reacción.

[0015] Otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar un procedimiento mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II, en donde dicho proceso evita la formación de la impureza N-acetilo.

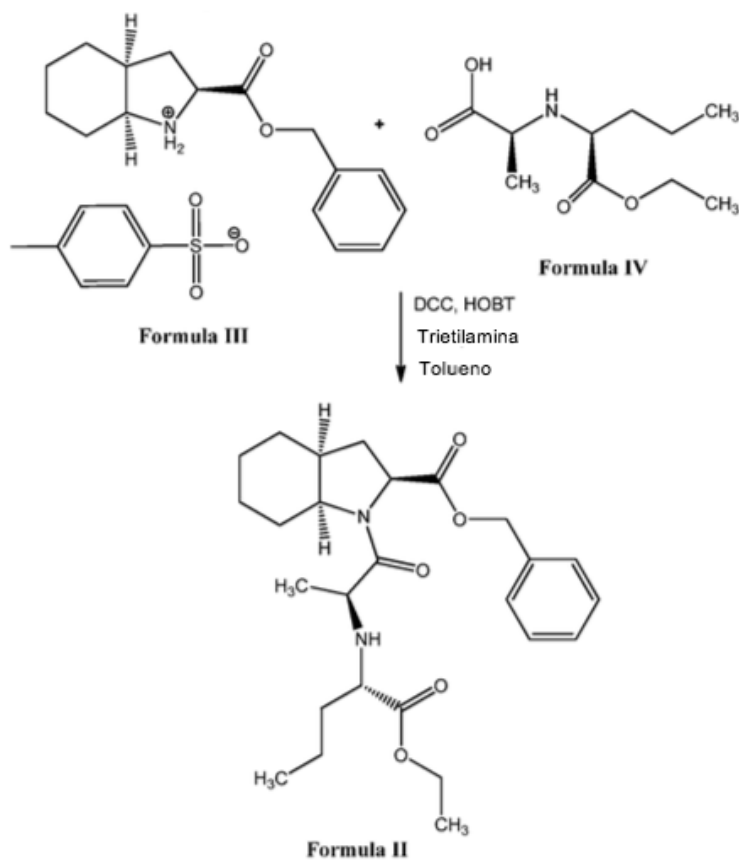
[0016] Aún otro objeto de la presente invención consiste en proporcionar un procedimiento mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II, en donde dicho proceso implica la eliminación completa del subproducto, dicitohexilurea (DCU).

[0017] Un objeto adicional de la presente invención consiste en proporcionar un procedimiento mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II con un rendimiento de 99% y la pureza de 95%, en donde dicho proceso no implica una etapa de purificación adicional.

Sumario de la invención

[0018] De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un procedimiento mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II que comprende hacer reaccionar el compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usando 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), dicitohexilcarbodiimida (DCC) y trietilamina en presencia de tolueno como disolvente a una temperatura de 5°C a 40°C.

[0019] El proceso de la presente invención se representa en el esquema I a continuación:



Esquema 1

[0020] De manera importante, el proceso para la preparación del compuesto de fórmula II que implica la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV que usa tolueno como disolvente evita la formación de impurezas de N-acetilo.

[0021] Además, el proceso para la preparación del compuesto de fórmula II implica la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usando tolueno como disolvente evita la etapa adicional de purificación necesaria para la eliminación completa del subproducto, díciclohexilurea (DCU).

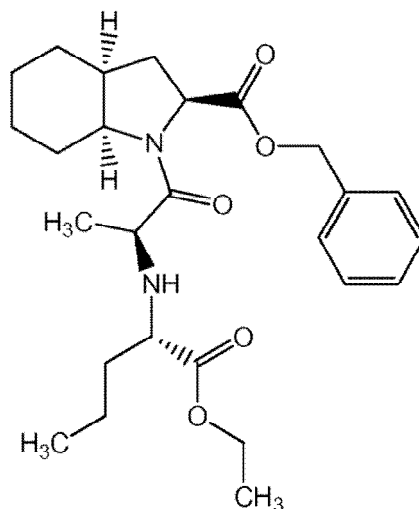
[0022] El compuesto de fórmula II preparado de acuerdo con el presente procedimiento se obtiene con un rendimiento de 99% y una pureza del 95%.

Descripción detallada de la invención

[0023] Por consiguiente, la presente invención se refiere a un proceso mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II.

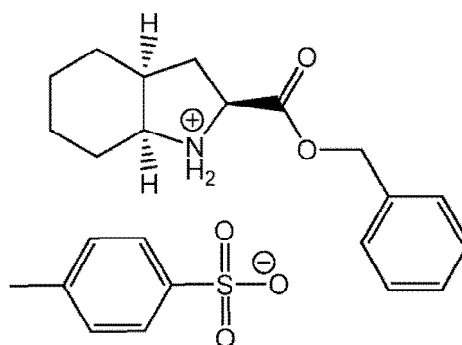
[0024] Según la presente invención, el procedimiento mejorado para la preparación del compuesto de fórmula II implica el uso de tolueno como disolvente.

[0025] Así, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula II,



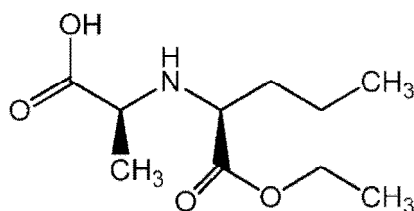
Formula II

comprendiendo,
hacer reaccionar el compuesto de fórmula III,



Formula III

con el compuesto de fórmula IV,



Formula IV

usando 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), diciclohexilcarbodiimida (DCC) y trietilamina en presencia de tolueno como disolvente a una temperatura de 5-40°C para obtener el compuesto de fórmula II.

[0026] De acuerdo con una realización de la presente invención, el disolvente, tolueno, se utiliza en una cantidad que varía de 10 a 15 volúmenes basados en el compuesto de fórmula III.

[0027] De acuerdo con una realización de la presente invención, la reacción se lleva a cabo a una temperatura de 15-20°C.

[0028] De acuerdo con una realización de la presente invención, trietilamina se utiliza en una cantidad que varía de 1 a 3 equivalentes molares basados en el compuesto de fórmula III.

[0029] De acuerdo con una realización de la presente invención, 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) se utiliza en una cantidad que varía de 0,8 a 2,5 equivalentes molares basados en el compuesto de fórmula III.

[0030] De acuerdo con una realización de la presente invención, dicitclohexilcarbodiimida (DCC) se utiliza en una cantidad que varía de 0,8 a 2,5 equivalentes molares basados en el compuesto de fórmula III.

[0031] El material de partida del proceso, es decir, el compuesto de fórmula III es un compuesto conocido y se pueden preparar por una persona experta en la técnica siguiendo los métodos descritos en la literatura. Por ejemplo, el proceso descrito en la Patente de Estados Unidos N° 4914214 puede usarse para la preparación del compuesto de fórmula III. El proceso implica la reacción (2S, 3aS, 7aS)-2-carboxiperhidroindol con 4-metilbencenosulfonato y alcohol bencílico usando tolueno como disolvente. El agua formada durante la reacción se elimina por destilación azeotrópica. Después de la eliminación completa del agua, la mezcla de reacción se enfría para precipitar el compuesto de fórmula III.

[0032] Según la presente invención, el procedimiento para la preparación del compuesto de fórmula II implica la carga del compuesto de fórmula III, tolueno y trietilamina al matraz de reacción y la mezcla de reacción se agitó a una temperatura de 20-30°C por 30 a 60 minutos. A la mezcla de reacción resultante se cargaron el compuesto de fórmula IV, 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) y 1-dicitclohexilcarbodiimida (DCC) a una temperatura de 15-20°C y la mezcla de reacción se agitó durante 8 a 10 horas, formando dicitclohexilo-urea (DCU) como un subproducto. El subproducto de dicitclohexilurea (DCU) se filtró. El filtrado obtenido se extrajo luego dos veces con solución acuosa de bicarbonato de sodio. Las dos capas formadas fueron separadas. La capa orgánica se lavó con agua y se destiló a vacío a una temperatura de 30-60°C para producir el compuesto de fórmula II.

[0033] Los inventores de la presente invención han observado que cuando se utilizó tolueno como disolvente de reacción en el proceso de síntesis del compuesto de fórmula II, la formación de la impureza de N-acetilo se evitó completamente como acetato de etilo responsable de la formación de impureza de N-acetilo no estaba presente en la mezcla de reacción. El estudio comparativo que implica el uso de acetato de etilo y tolueno como disolvente de reacción en el proceso para la preparación del compuesto de fórmula II se describe en la sección experimental.

[0034] La reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV usando 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), dicitclohexilcarbodiimida (DCC) y trietilamina, da el compuesto de fórmula II. Durante la síntesis del compuesto de fórmula II, tiene lugar la reacción del compuesto de fórmula IV con dicitclohexilcarbodiimida (DCC) que da como resultado la formación de un subproducto, a saber, dicitclohexilurea (DCU). Este subproducto formado en la mezcla de reacción requiere ser separado por filtración. Es importante observar aquí que el subproducto, dicitclohexilurea (DCU) es parcialmente soluble en acetato de etilo, el disolvente utilizado en los procesos de la técnica anterior, mientras que es insoluble en tolueno. Cuando se usó tolueno como disolvente de reacción, el subproducto formado se separó por completo por filtración ya que no es soluble en tolueno, proporcionando así el filtrado libre del subproducto que se concentró adicionalmente para dar el compuesto de fórmula II.

[0035] El uso de tolueno como disolvente en el proceso para la preparación del compuesto de fórmula II proporciona una ventaja adicional ya que puede recuperarse fácilmente. Como resultado, el proceso se vuelve rentable y viable desde el punto de vista industrial.

[0036] Los siguientes ejemplos que ilustran completamente la práctica de las formas de realización preferidas de la presente invención están destinados a ser sólo para fines ilustrativos y no deben ser considerados en modo alguno limitantes del alcance de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1:

[0037] A una matraz de reacción el compuesto de fórmula III (100 g), tolueno (800 ml) y trietilamina (46,9g) se cargaron y la mezcla de reacción se agitó a una temperatura de 20-30°C durante 30 a 60 minutos. La mezcla de reacción resultante se enfrió entonces a una temperatura de 15-20°C. A la mezcla de reacción se cargaron entonces 1-hidroxibenzotriazol (HOBt) (40,8 g), el compuesto de fórmula IV (65,2 g) y 1-dicitclohexilcarbodiimida (DCC) (62,4 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 8 a 10 horas a una temperatura de 15-20°C, en la que se forma dicitclohexilurea (DCU) como subproducto. La mezcla de reacción se filtró luego y el subproducto se lavó con tolueno. El filtrado se extrajo luego dos veces con solución acuosa de bicarbonato sódico y la capa orgánica se separó. La capa orgánica separada se lavó a continuación con agua y se destiló a vacío a una temperatura de 30-60°C para proporcionar el compuesto de fórmula II. Rendimiento 99%, pureza 95%.

Ejemplo 2:

[0038] Al matraz de reacción se cargaron el compuesto de fórmula III (50 g), tolueno (500 ml) y trietilamina (23,4 g) y la mezcla de reacción se agitó a una temperatura de 20-30°C durante 30 a 60 minutos. La mezcla de reacción resultante se enfrió entonces a una temperatura de 15-20°C. A la mezcla de reacción se cargaron después 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) (20,4 g), el compuesto de fórmula IV (32,6 g) y 1-diciclohexilcarbodiimida (DCC) (31,4 g) y la mezcla de reacción se agitó durante 8 a 10 horas a temperatura de 15-20°C, en donde se forma diciclohexilurea (DCU) como un subproducto. La mezcla de reacción se filtró luego y el subproducto se lavó con tolueno. El filtrado se extrajo luego dos veces con solución acuosa de bicarbonato sódico y la capa orgánica se separó. La capa orgánica separada se lavó a continuación con agua y se destiló a vacío a una temperatura de 30-60°C para proporcionar el compuesto de fórmula II. Rendimiento 99%, pureza 95%.

Estudio comparativo que implica el proceso para la preparación del compuesto de fórmula II descrito en la técnica anterior en el que se usa acetato de etilo como el disolvente con respecto al proceso de la presente invención en donde se usa tolueno como disolvente

[0039]

Tabla 1

Nº de ex.	Solvente	% de impureza de N-acetilo observado en el compuesto de fórmula II	% de ácido N-acetilo(2S, 3aS, 7aS)octahidroindol-2-carboxílico observado en la sal de terc-butilamina del compuesto de fórmula I	Límite de farmacopea (EP)
1.	Acetato de etilo	0,1-0,15	0,2-0,3	0,1
2.	Tolueno	No observado	No observado	0,1

Nº de ex. = Nº de experimento

[0040] Los resultados presentados en la Tabla-1 se discuten en el presente documento a continuación:

- Como se indica en Ex. Nº 1, cuando la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV fue llevado a cabo en presencia de acetato de etilo como disolvente, se observó que se forma impureza de N-acetilo con el compuesto de fórmula II. Se forma aproximadamente 0,1 a 0,15% de impureza de N-acetilo en la mezcla de reacción. Además, cuando el compuesto de fórmula II que contiene 0,1 a 0,15% de impureza se convirtió en el compuesto de fórmula I (perindopril) o sus sales de terc-butilamina, la impureza de N-acetilo se convirtió en una impureza, concretamente ácido N-acetilo(2S, 3aS, 7aS)octahidroindol-2-carboxílico. Se encontró que el porcentaje de impureza de ácido N-acetilo(2S, 3aS, 7aS)octahidroindol-2-carboxílico era 0,2-0,3%. Por lo tanto, la presencia de ácido N-acetilo(2S, 3aS, 7aS)octahidroindol-2-carboxílico como una impureza con el producto disminuye finalmente la pureza del producto terapéuticamente eficaz, es decir, el compuesto de fórmula I y su sal de terc-butilamina.

- Como se indica en Ex. No. 2, cuando la reacción del compuesto de fórmula III con el compuesto de fórmula IV se llevó a cabo en presencia de tolueno como disolvente, se observó que el compuesto de fórmula II se formó exclusivamente. En otras palabras, este proceso no implica la formación de la impureza de N-acetilo. Como resultado, también se aumentó la pureza del compuesto de fórmula I (Perindopril) preparado a partir del compuesto de fórmula II.

Detalles para análisis de HPLC:

[0041]

Columna: Simetría del agua - C-8, 5 µm, 3,9 x 150 mm Parte Nº - WAT046970

Fase móvil:

Fase A móvil: -

Tome 1.000 ml de agua y ajuste el pH a 2,5 con ácido perclórico. Filtre la fase móvil con un filtro de membrana de nailon de 0,45 µ.

Fase B móvil: -

Tome 1.000 ml de acetonitrilo y agregue 0,3 ml de ácido perclórico. Filtre la fase móvil con un filtro de membrana de nailon de 0,45 µ.

Flujo: 1,0 ml/min

Tiempo de ejecución: 72 min

Volumen de inyección: 20 µL

Diluyente: - Fase móvil A: Acetonitrilo (9:1)

5 **Procedimiento:**

- 1) Inyectar 20 µl del blanco, es decir, diluyente.
- 2) Inyectar 20 µl de la solución de referencia.
- 3) Inyectar 20 µl de la solución de muestra.

10

Cálculo: Informe por método de normalización de área

15

20

25

30

35

40

45

50

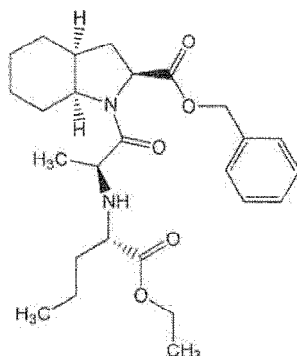
55

60

65

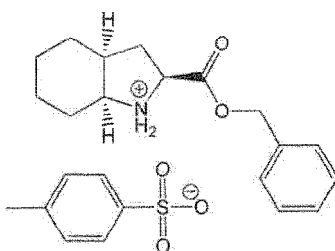
Reivindicaciones

1. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula II,



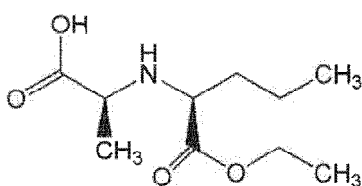
Formula II

comprendiendo,
hacer reaccionar el compuesto de fórmula III,



Formula III

con el compuesto de fórmula IV,



Formula IV

usando 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), diciclohexilcarbodiimida (DCC) y trietilamina en presencia de tolueno como disolvente a una temperatura de 5-40°C para obtener el compuesto de fórmula II.

2. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que se usa tolueno en una cantidad que varía de 10 a 15 volúmenes en base al compuesto de fórmula III.

3. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que la temperatura oscila entre 15 y 20°C.

4. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que la trietilamina se usa en una cantidad que oscila entre 1 y 3 equivalentes molares basados en el compuesto de fórmula III.

5. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que se usa hidroxibenzotriazol (HOBt) en una cantidad que varía de 0,8 a 2,5 equivalentes molares en base al compuesto de fórmula III.

6. El procedimiento según la reivindicación 1, en el que se usa diciclohexilcarbodiimida (DCC) en una cantidad que varía de 0,8 a 2,5 equivalentes molares en base al compuesto de fórmula III.