

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 447**

51 Int. Cl.:

A01N 43/16 (2006.01)
A61K 31/35 (2006.01)
C07D 307/93 (2006.01)
C07D 405/12 (2006.01)
C07C 319/06 (2006.01)
C07C 323/40 (2006.01)
C07D 207/12 (2006.01)
C07D 207/416 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.03.2014 PCT/US2014/031574**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **02.10.2014 WO14160638**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.03.2014 E 14775153 (1)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.02.2018 EP 2978313**

54 Título: **Procedimiento de fabricación de compuestos de prostaciclina con tiol de unión y formas pegiladas**

30 Prioridad:
25.03.2013 US 201361805048 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.07.2018

73 Titular/es:
**UNITED THERAPEUTICS CORPORATION
(100.0%)
1040 Spring Street
Silver Spring, MD 20910, US**

72 Inventor/es:
**BATRA, HITESH y
GUO, LIANG**

74 Agente/Representante:
FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 676 447 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 fabricación de compuestos de prostaciclina con tiol de unión y formas pegiladas

5 **Campo**

La presente tecnología se refiere a un procedimiento para la síntesis estereoselectiva de derivados de prostaciclina y compuestos intermedios novedosos útiles en el procedimiento.

10 **Antecedentes**

Los derivados de prostaciclina, incluyendo treprostinil, beraprost, iloprost y epoprostenol, son compuestos farmacéuticos útiles que presentan actividades tales como inhibición de la agregación plaquetaria, reducción de la secreción gástrica, inhibición de lesiones y broncodilatación. Son útiles para prevenir, controlar y tratar una diversidad de enfermedades y estados patológicos.

Treprostinil, el principio activo en Remodulin[®] Remodulin[®], Tyvaso[®] y Orenitram[™], se describió por primera vez en la patente estadounidense n.º 4.306.075. Se describen métodos de preparación de treprostinil y otros derivados de prostaciclina, por ejemplo, en Moriarty, *et al.* en *J. Org. Chem.* 2004, 69, 1890-1902, *Drug of the Future*, 2001, 26(4), 364-374, las patentes estadounidenses n.ºs 6.441.245, 6.528.688, 6.700.025, 6.809.223, 6.756.117; 8.461.393; 8.481.782; 8.242.305; 8.497.393; las solicitudes de patente estadounidense n.ºs 2012-0190888 y 2012-0197041; la publicación PCT n.º WO2012/009816.

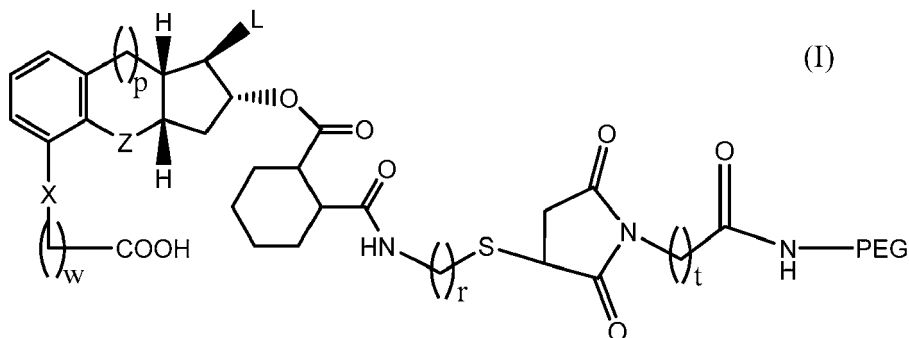
Se divulgan diversos usos y/o diversas formas de treprostinil, por ejemplo, en las patentes estadounidenses n.ºs 5.153.222; 5.234.953; 6.521.212; 6.756.033; 6.803.386; 7.199.157; 6.054.486; 7.417.070; 7.384.978; 7.879.909; 8.563.614; 8.252.839; 8.536.363; 8.410.169; 8.232.316; 8.609.728; 8.350.079; 8.349.892; 7.999.007; 8.658.694; 8.653.137; las publicaciones de solicitud de patente estadounidense n.ºs 2005/0165111; 2009/0036465; 2008/0200449; 2010-0076083; 2012-0216801; 2008/0280986; 2009-0124697; 2013-0261187; la publicación PCT n.º WO00/57701; las solicitudes provisionales estadounidenses n.ºs 61/791.015, presentada el 15 de marzo de 2013, y 61/781.303, presentada el 14 de marzo de 2013.

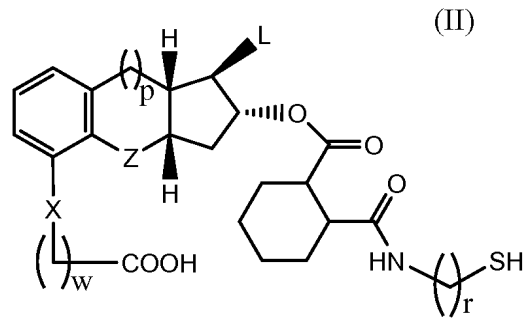
Se divulgan beraprost y análogos de benzoprostaciclina relacionados de fórmula (I) en la patente estadounidense n.º 5.202.447 y *Tetrahedron Lett.* 31, 4493 (1990). Además, tal como se describe en la patente estadounidense n.º 7.345.181, se conocen varios métodos de síntesis para producir análogos de benzoprostaciclina. Se divulgan métodos de preparación de beraprost y compuestos relacionados, por ejemplo, en la publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2012/0323025 y la publicación PCT WO2013/040068. En el documento WO2013/024052, los compuestos de fórmula I se preparan condensando un compuesto tricíclico que corresponde a la presente fórmula IV con ácido 2-[[[6-[(trifenilmetil)tio]hexil]amino]carbonil]-ciclohexanocarboxílico.

40 **Sumario**

En un aspecto, se proporciona un procedimiento para producir un compuesto farmacéutico representado por la fórmula general (I) y la fórmula (II) en una forma isoméricamente pura de manera sustancial. El procedimiento se completó en menos etapas que los métodos de síntesis conocidos, y puede efectuarse para preparar cantidades comercialmente útiles. En otro aspecto, se proporcionan métodos de síntesis para producir análogos de derivados de prostaciclina tales como treprostinil y beraprost, que son estereoselectivos, eficaces, expansibles y económicos. En otro aspecto, se producen compuestos y productos intermedios isoméricamente puros de manera sustancial mediante los procedimientos anteriores. Además, la presente invención incluye métodos de tratamiento de hipertensión pulmonar que comprenden administrar los compuestos a un sujeto que lo necesita.

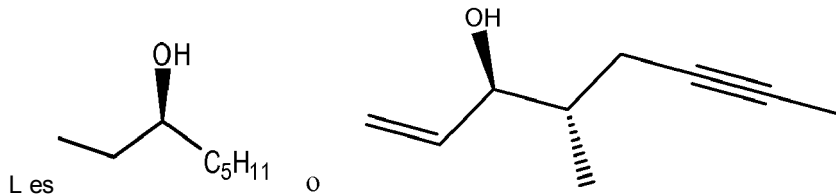
En diversas realizaciones, se proporciona un procedimiento que prepara compuestos de fórmula I y II:





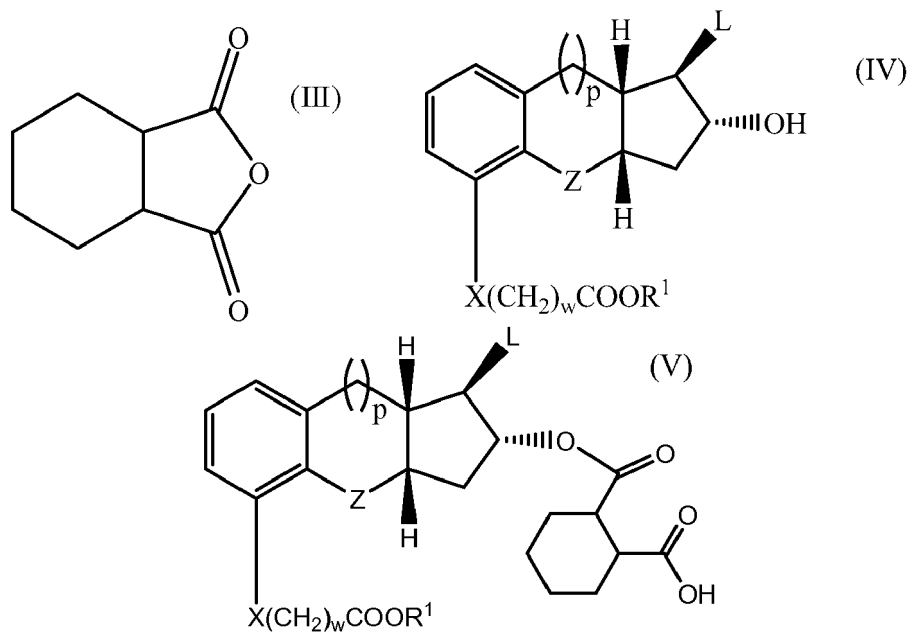
En las formulas I y II:

- 5 X es O o CH₂;
Z es O o CH₂;

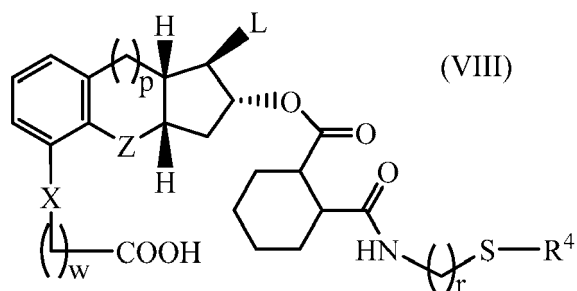
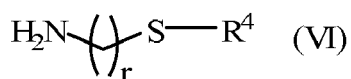


- 10 p=0 o 1;
r=1-8;
15 t=1, 2 o 3; y
w=1, 2 o 3.

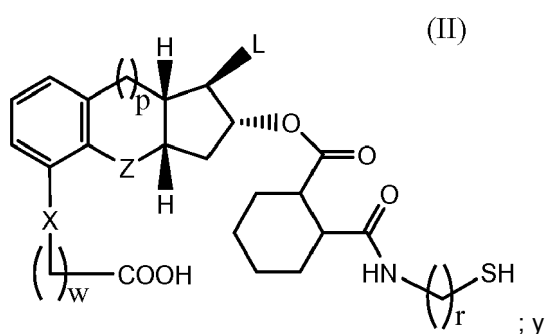
20 Una realización proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende acoplar un anhídrido *meso* de fórmula III con un compuesto de éster de fórmula IV en presencia de un ligando quirral, para proporcionar un compuesto de fórmula V:



25 acoplar el compuesto de fórmula V con un compuesto de fórmula VI para formar un tiol, hidrolizar el tiol con un agente hidrolizante para formar un compuesto de fórmula VIII;



5 desproteger el compuesto de fórmula VIII para formar el compuesto de fórmula II:

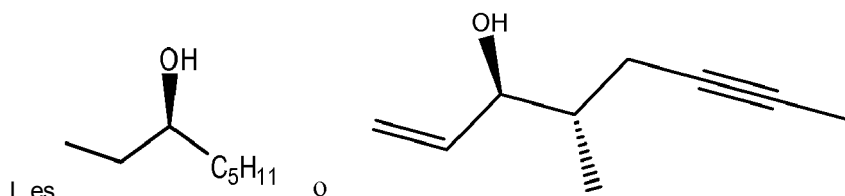


10 acoplar el compuesto de fórmula II con un compuesto de PEG-maleimida para formar el compuesto de fórmula I;

en las que

X es O o CH₂;

15 Z es O o CH₂;



20 p=0 o 1;

r=1-8;

t=1, 2 o 3;

25 w=1, 2 o 3;

PEG es un resto de polietilenglicol;

30 R¹ representa un grupo protector de ácido;

R² representa un grupo protector de hidroxilo; y

R⁴ representa un grupo de protección de tiol.

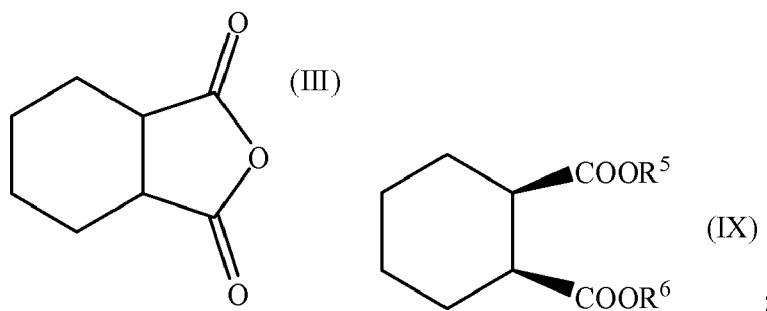
35 En algunas realizaciones, R¹ es un grupo bencilo, butilo terciario, dimetoxibencilo, nitrobencilo o un grupo dinitrobencilo.

En algunas realizaciones, el ligando quiral es un derivado de quinina o quinidina. En algunas realizaciones, el

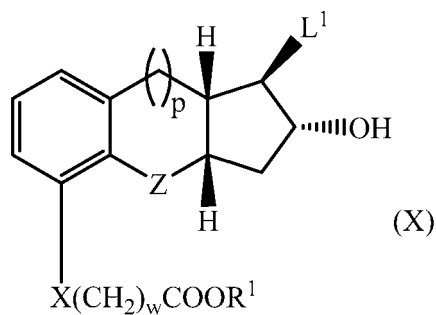
derivado de quinina o quinidina es antraquinona-1,4-diil diéter de hidroquinina ((DHQ)₂AQN), antraquinona-1,4-diil diéter de hidroquinidina ((DHQD)₂AQN).

5 En algunas realizaciones, el agente hidrolizante es hidróxido de trimetilestaño. En algunas realizaciones, el compuesto de fórmula VIII se desprotege usando un ácido. En algunas realizaciones, el ácido es ácido trifluoroacético.

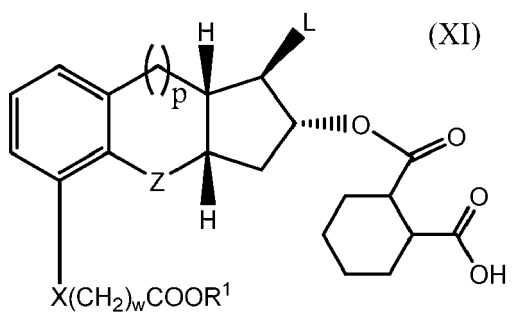
10 Se describe en el presente documento un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende: desimetrizar un anhídrido *meso* de estructura III usando un alcohol para proporcionar un hemiéster de fórmula IX:



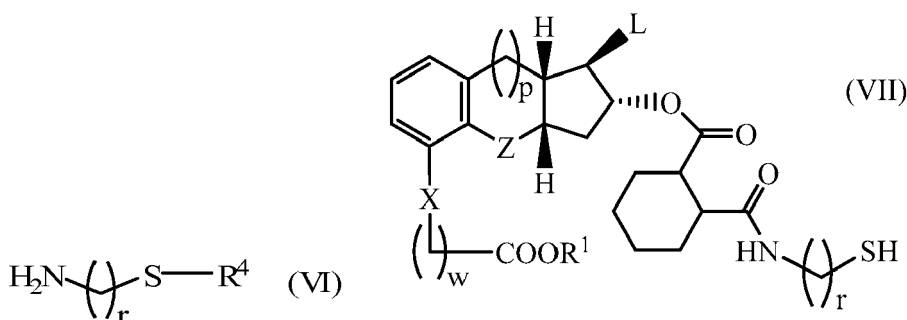
15 acoplar el compuesto de fórmula IX con un compuesto de fórmula X,



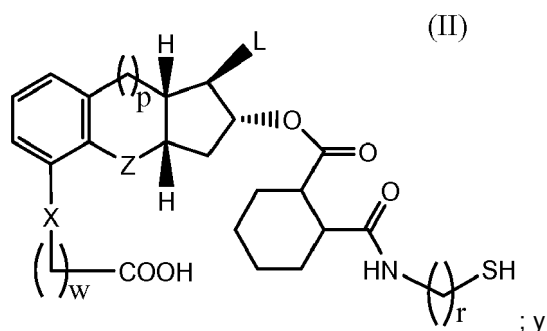
desproteger el producto del acoplamiento de la fórmula IX con la fórmula X, para formar el compuesto de fórmula XI:



20 acoplar el compuesto de fórmula XI con un compuesto de fórmula VI, para obtener un compuesto de fórmula VII:



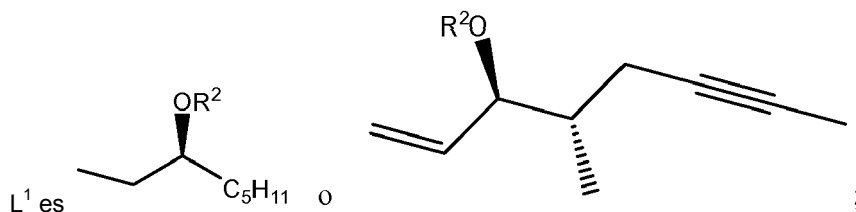
desproteger el compuesto de fórmula VII para formar el compuesto de fórmula II:



5 acoplar el compuesto de fórmula II con un compuesto de maleimida de polietilenglicol para formar el compuesto de fórmula I;

en las que Z, L, p, r, t, w, R¹, R² y R⁴ son tal como se definen en el presente documento;

10



y

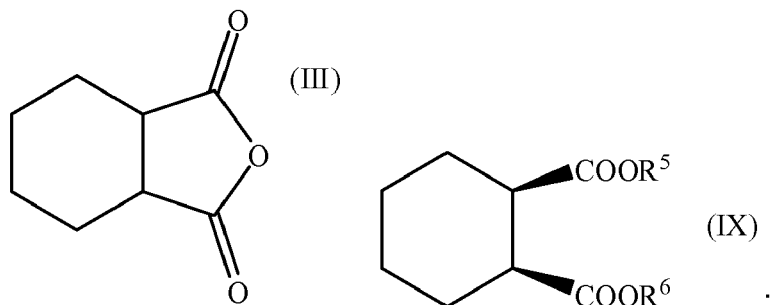
15 uno de R⁵ y R⁶ representa H y el otro representa un grupo alquilo C₁₋₆, alilo o un arilo.

En algunos casos, R¹ es un grupo bencilo, butilo terciario, dimetoxibencilo, nitrobencilo o un dinitrobencilo.

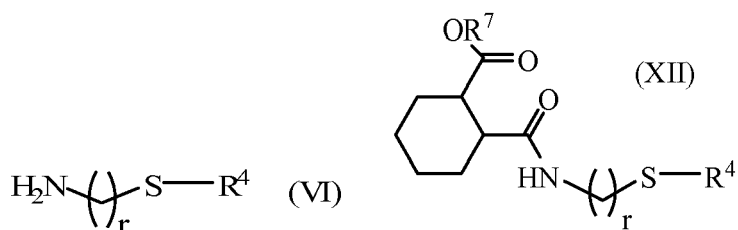
20 En otros casos, R² es un grupo tetrahidropiraniilo, bencilo, metoxibencilo, nitrobencilo, butildimetilsililo terciario o un metildimetilsililo terciario.

En algunos casos, el compuesto de fórmula VII se desprotege usando un ácido. En algunas realizaciones, el ácido es ácido trifluoroacético.

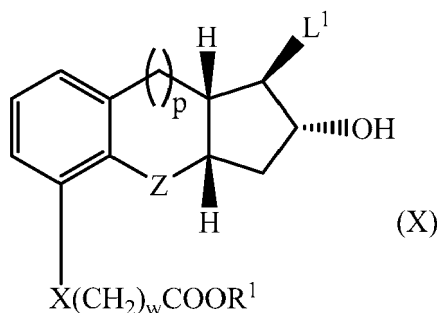
25 Se describe en el presente documento un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende desimetrizar un anhídrido *meso* de fórmula III usando un alcohol para proporcionar un hemiéster de fórmula IX:



30 acoplar el compuesto de fórmula IX con un compuesto de fórmula VI, para proporcionar un compuesto de fórmula XII

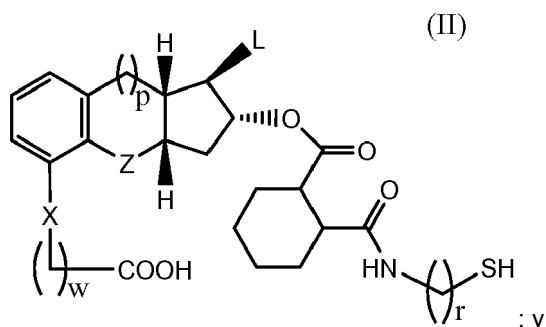


acoplar el compuesto de fórmula XII con un compuesto de fórmula X,



5

desproteger el producto del acoplamiento de la fórmula XII con la fórmula X, para formar el compuesto de fórmula II:



10

acoplar el compuesto de fórmula II con un compuesto de maleimida de polietilenglicol para formar el compuesto de fórmula I;

15

en las que X, Z, L, L¹, p, r, t, w, R¹, R² y R⁴ son tal como se definen en el presente documento; y R⁷ representa un grupo protector de ácido.

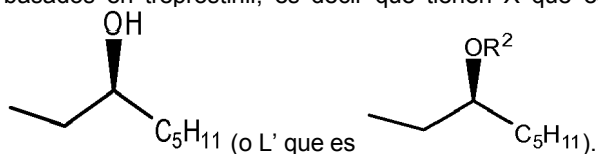
20

En algunos casos, R¹ es un grupo bencilo, butilo terciario, dimetoxibencilo, nitrobencilo o un dinitrobencilo. En algunas realizaciones, R² es un grupo tetrahidropiraniolo, bencilo, metoxibencilo, nitrobencilo, butildimetilsililo terciario o un metildimetilsililo terciario. En algunas realizaciones, R⁷ es un grupo alquilo C₁₋₆.

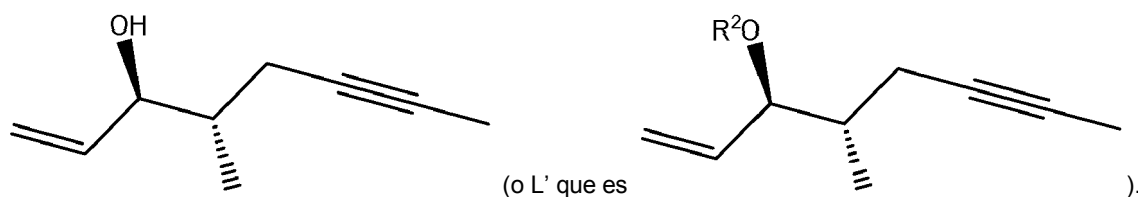
En algunos casos, X es O, w es 1, r es 6; y t es 2. En otras realizaciones, X es CH₂, w es 2, r es 6 y t es 2.

En algunas realizaciones, los compuestos de formulas (I), (II), (IV), (V), (VII), (VIII), (IX), (X), (XI) pueden estar basados en treprostnil, es decir que tienen X que es O, Z que es CH₂, w que es 1, p que es 1 y L que es

25



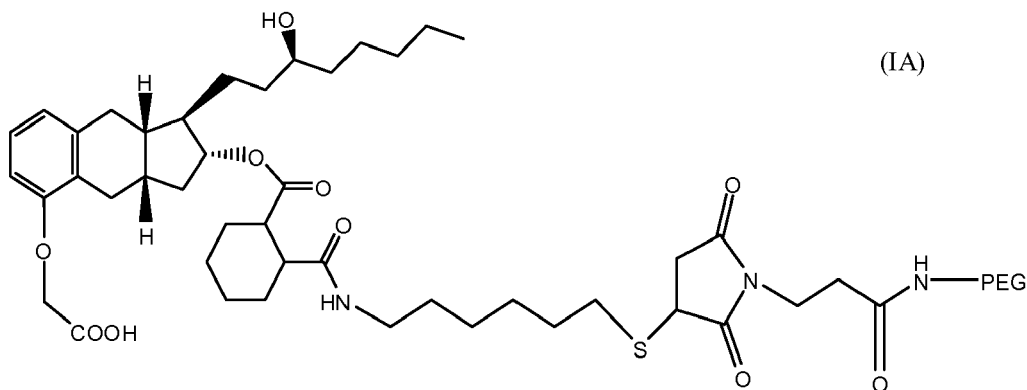
Aún en algunas realizaciones, los compuestos de formulas (I), (II), (IV), (V), (VII), (VIII), (IX), (X), (XI) pueden estar basados en beraprost, es decir que tienen X que es CH₂, Z que es O, w que es 2, p que es 0 y L que es



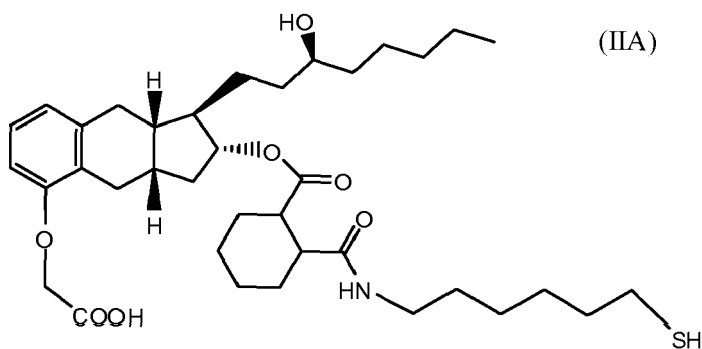
En algunas realizaciones, el nivel de pureza del compuesto de fórmula I es de al menos el 90 %, el 95 % o el 99 %. En otras realizaciones, el nivel de pureza del compuesto de fórmula II es de al menos el 90 %, el 95 % o el 99 %. Incluso más preferiblemente, el nivel de pureza de los compuestos de fórmula I y II es de al menos el 99,1 %, el 99,2 %, el 99,3 %, el 99,4 %, el 99,5 %, el 99,6 %, el 99,7 %, el 99,8 % o el 99,9 %.

En algunas realizaciones, el compuesto de maleimida de polietilenglicol es una maleimida de PEG de 20 KDa de 4 brazos.

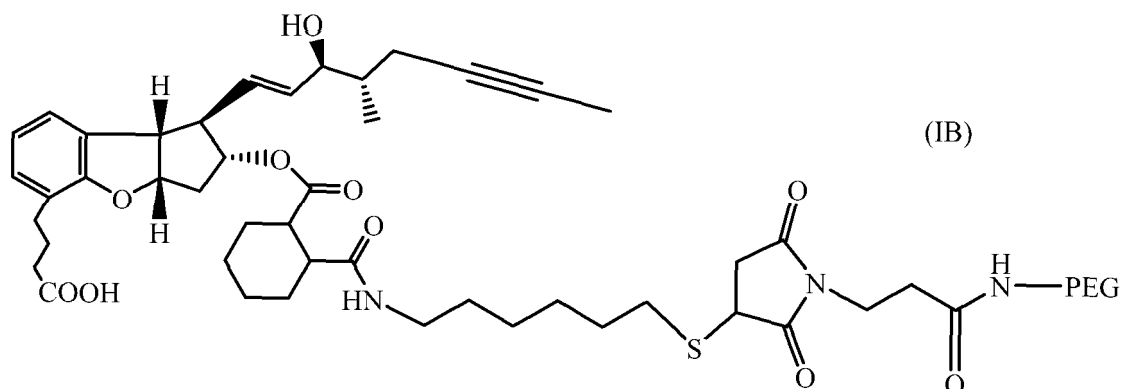
Se describe en el presente documento un compuesto de fórmula IA, preparado mediante cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento.



Se describe en el presente documento un compuesto de fórmula IIA, preparado mediante cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento.

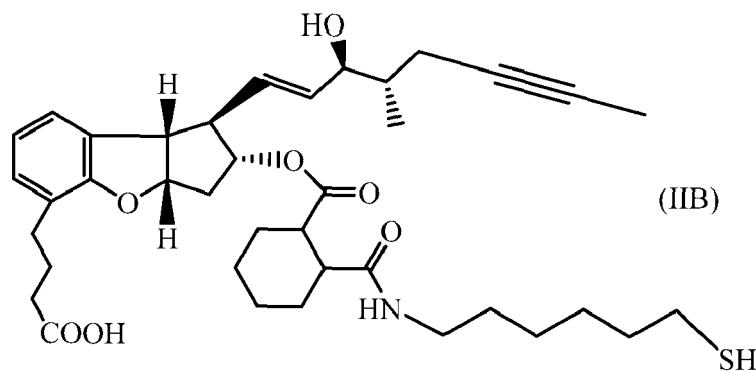


Se describe en el presente documento un compuesto de fórmula IB, preparado mediante cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento.



Se describe en el presente documento un compuesto de fórmula IIB, preparado mediante cualquiera de los procedimientos descritos en el presente documento.

5



Descripción detallada

10 Se describen diversas realizaciones a continuación en el presente documento. Debe observarse que no se pretende que las realizaciones específicas sean una descripción exhaustiva o una limitación para los aspectos más amplios comentados en el presente documento. Un aspecto descrito junto con una realización particular no está necesariamente limitado a esa realización y puede ponerse en práctica con cualquier otra realización.

15 El uso de los términos “un” y “una” y “el/la” y referentes similares en el contexto de la descripción de los elementos (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) debe interpretarse que cubre tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en el presente documento o lo contradiga claramente el contexto. Se pretende que la enumeración de intervalos de valores en el presente documento sirva meramente como método de abreviatura de referencia individual a cada valor independiente que se encuentra dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en el presente documento, y cada valor independiente se incorpora en la memoria descriptiva como si se enumerase individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en el presente documento o que lo contradiga claramente de otra manera el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o expresiones a modo de ejemplo (por ejemplo, “tal como”) proporcionados en el presente documento, pretende meramente aclarar mejor las realizaciones y no supone una limitación en el alcance de las reivindicaciones a menos que se establezca lo contrario. Ninguna expresión en la memoria descriptiva debe interpretarse que indica que cualquier elemento no reivindicado sea esencial.

25 La expresión “que comprende” quiere decir “que incluye pero no se limita a”. Por tanto, pueden estar presentes otras sustancias, aditivos, vehículos o etapas no mencionados. A menos que se especifique lo contrario, “un” o “una” quiere decir uno o más.

30 A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de componentes, condiciones de reacción y así sucesivamente usados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones debe entenderse que están modificados en todos los casos por el término “aproximadamente”. Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos expuestos en la siguiente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones. Cada parámetro numérico debe interpretarse al menos en vista del número de dígitos significativos notificados y aplicando técnicas ordinarias de redondeo. El término “aproximadamente”, cuando se usa antes de una designación numérica, por ejemplo, temperatura, tiempo, cantidad y concentración, incluyendo un intervalo, indica aproximaciones que pueden variar en (+) o (-) el 10 %, el 5 % o el 1 %.

40

Tal como se usa en el presente documento, C_{m-n} , tal como C_{1-12} , C_{1-8} o C_{1-6} cuando se usa después de un grupo se refiere a que ese grupo contiene de m a n átomos de carbono.

El término "alcoxilo" se refiere a -O-alquilo.

5 Tal como se usa en el presente documento, "halo" o "halógeno" o incluso "haluro" puede referirse a flúor, cloro, bromo y yodo.

10 El término "alquilo" se refiere a grupos hidrocarbilo alifáticos saturados monovalentes que tienen de 1 a 12 átomos de carbono (es decir, alquilo C_1-C_{12}) o de 1 a 8 átomos de carbono (es decir, alquilo C_1-C_8), o de 1 a 4 átomos de carbono. Este término incluye, a modo de ejemplo, grupos hidrocarbilo lineales y ramificados tales como metilo (CH_3-), etilo (CH_3CH_2-), *n*-propilo ($CH_3CH_2CH_2-$), isopropilo ($(CH_3)_2CH-$), *n*-butilo ($CH_3CH_2CH_2CH_2-$), isobutilo ($(CH_3)_2CHCH_2-$), *sec*-butilo ($(CH_3)(CH_3CH_2)CH-$), *t*-butilo ($(CH_3)_3C-$), *n*-pentilo ($CH_3CH_2CH_2CH_2CH_2-$) y neopentilo ($(CH_3)_3CCH_2-$).

15 El término "arilo" se refiere a un anillo mono o bicíclico aromático, monovalente que tiene 6-10 átomos de carbono de anillo. Los ejemplos de arilo incluyen fenilo y naftilo. El anillo condensado puede ser o no aromático siempre que el punto de unión sea en un átomo de carbono aromático.

20 Las combinaciones de sustituyentes y variables son solo aquellas que dan como resultado la formación de compuestos estables. El término "estable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que presentan suficiente estabilidad para permitir la fabricación y que mantienen la integridad del compuesto durante un periodo de tiempo suficiente para ser útiles para los propósitos detallados en el presente documento.

25 Tal como se usa en el presente documento, el término "profármaco" quiere decir un derivado de un compuesto que puede hidrolizarse, oxidarse o reaccionar de otra manera en condiciones biológicas (*in vitro* o *in vivo*) para proporcionar un compuesto activo. Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, derivados de un compuesto que incluye grupos biohidrolizables tales como amidas biohidrolizables, ésteres biohidrolizables, carbamatos biohidrolizables, carbonatos biohidrolizables, ureidos biohidrolizables y análogos de fosfato biohidrolizables (por ejemplo, monofosfato, difosfato o trifosfato).

Tal como se usa en el presente documento, "hidrato" es una forma de un compuesto en el que se combinan moléculas de agua en una determinada razón como una parte integral del complejo estructural del compuesto.

35 Tal como se usa en el presente documento, "solvato" es una forma de un compuesto en el que se combinan moléculas de disolvente en una determinada razón como una parte integral del complejo estructural del compuesto.

40 "Farmacéuticamente aceptable" quiere decir en la presente descripción que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y no indeseable ni biológicamente ni de otra manera e incluye ser útil para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano.

45 "Sales farmacéuticamente aceptables" quiere decir sales que son farmacéuticamente aceptables, tal como se definió anteriormente y que presentan la actividad farmacológica deseada. Tales sales incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos orgánicos e inorgánicos, tales como cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, yoduro de hidrógeno, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido glicólico, ácido maleico, ácido malónico, ácido oxálico, ácido metanosulfónico, ácido trifluoroacético, ácido fumárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido ascórbico y similares. Pueden formarse sales de adición de base con bases orgánicas e inorgánicas, tales como sodio, amoniaco, potasio, calcio, etanolamina, dietanolamina, N-metilglucamina, colina y similares. Se incluyen sales o compuestos farmacéuticamente aceptables de cualquiera de las fórmulas en el presente documento.

50 Dependiendo de su estructura, la frase "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una sal de ácido o de base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable de un compuesto. Las sales farmacéuticamente aceptables representativas incluyen, por ejemplo, sales de metales alcalinos, sales alcalinotérricas, sales de amonio, sales solubles en agua y sales insolubles en agua tales como las sales de acetato, amonato (4,4-diaminoetilbeno-2,2-disulfonato), benzenosulfonato, benzonato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, butirato, calcio, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, citrato, clavulato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexafluorofosfato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, sal de amonio de N-metilglucamina, 3-hidroxi-2-naftoato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato (1,1-meteno-bis-2-hidroxi-3-naftoato, einbonato), pantotenato, fosfato/difosfato, picrato, poligalacturonato, propionato, p-toluenosulfonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, sulfato, sulfosalicilato, suramato, tanato, tartrato, teoclato, tosilato, trietyoduro y valerato.

65 Tal como se usa en el presente documento, "grupo de protección" o "grupo protector" se usa tal como se conoce en

la técnica y tal como se demuestra en Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*.

5 Tal como se usa en el presente documento, "grupo protector de hidroxilo" o "grupo de protección de hidroxilo" se refiere a la definición entendida en general de un grupo de protección de alcohol o hidroxilo tal como se define en T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, 1991 (a continuación en el presente documento "Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*").

10 Tal como se usa en el presente documento, "grupo protector de tiol" o "grupo de protección de tiol" se refiere a la definición entendida en general de protección para el grupo tiol tal como se define en T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, 1991 (a continuación en el presente documento "Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*").

15 Tal como se usa en el presente documento, "grupo protector de ácido" o "grupo de protección de ácido" se refiere a la definición entendida en general de protección para el grupo ácido carboxílico tal como se define en T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, 1991 (a continuación en el presente documento "Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*").

20 Tal como se usa en el presente documento, "grupo protector de amina" o "grupo de protección de amina" se refiere a la definición entendida en general de protección para el grupo amino tal como se define en T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley and Sons, 1991 (a continuación en el presente documento "Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*").

25 Tal como se usa en el presente documento, compuesto o isómero sustancialmente puro se refiere a un isómero que es el 90 % de la mezcla isomérica resultante, o preferiblemente el 95 % de la mezcla isomérica resultante, o más preferiblemente el 98 % de la mezcla isomérica resultante, o incluso más preferiblemente el 99 % de la mezcla isomérica resultante, y lo más preferiblemente por encima del 99 % de la mezcla isomérica resultante.

30 En un aspecto, se proporcionan procedimientos para preparar derivados de prostaciclina. Tales derivados pueden incluir, en algunas realizaciones, derivados de treprostínil y beraprost. Los procedimientos incluyen también la preparación de varios compuestos intermedios útiles en la preparación de derivados de prostaciclina.

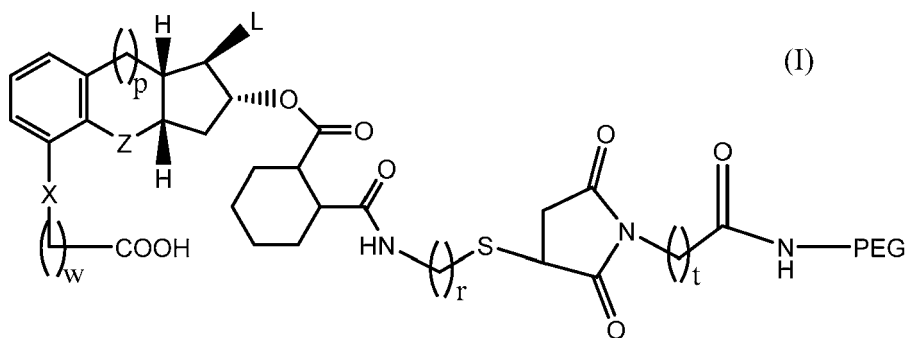
35 Una realización proporciona procedimientos para la preparación de un derivado de prostaciclina de tiol de unión quiral y un derivado de prostaciclina pegilado. Un tiol de unión quiral es un material de partida principal usado para preparar prostaciclina pegilada, tales como treprostínil pegilado (PEG UT-15) y beraprost pegilado. Las prostaciclina pegiladas, tales como treprostínil pegilado (PEG UT-15) y beraprost pegilado pueden usarse en formulaciones de liberación lenta. Por ejemplo, PEG UT-15 puede usarse en una formulación de "liberación lenta" del análogo de prostaciclina treprostínil. El treprostínil unido a un portador polimérico por medio de un tiol de unión transitoria (grupo de unión TransCon) puede conducir a una semivida *in vivo* prolongada después de administrarse a un sujeto, tal como un ser humano, que lo necesita. Tal administración puede ser por ejemplo, inyección subcutánea dentro del cuerpo del sujeto. El treprostínil no modificado se libera mediante escisión hidrolítica del grupo de unión a pH y temperatura fisiológicos. El treprostínil se acopla al grupo de unión mediante uno de sus grupos hidroxilo, y el grupo de unión se une al PEG portador por medio de un grupo tiosuccinimida. En una realización, se pretende que el treprostínil se libere de Peg UT-15 después de inyección subcutánea en el paciente. El procedimiento puede ser un procedimiento mucho más eficaz, comercialmente viable para fabricar los compuestos objetivo. El beraprost pegilado puede usarse en una formulación de "liberación lenta" del análogo de prostaciclina beraprost. El beraprost unido a un portador polimérico por medio de un tiol de unión transitoria (grupo de unión TransCon) puede conducir a una vida media *in vivo* prolongada después de administrarse a un sujeto, tal como un ser humano, que lo necesita.

50 Tal como se describe en el presente documento, la formulación de "liberación lenta" de prostaciclina pegilada, tal como treprostínil pegilado o beraprost pegilado, puede tener una semivida de liberación de al menos 12 horas, o al menos 15 horas, o al menos 18 horas, o al menos 21 horas, o al menos 24 horas, o al menos 27 horas, o al menos 30 horas, o al menos 36 horas, o al menos 42 horas, o al menos 48 horas, o al menos 54 horas, o al menos 60 horas, o al menos 72 horas, o al menos 84 horas, o al menos 96 horas, o al menos 5 días, o al menos 6 días, o al menos 7 días, o al menos 8 días, o al menos 9 días, o al menos 10 días, o al menos 11 días, o al menos 12 días, o al menos 13 días. En algunas realizaciones, una formulación de "liberación lenta" de prostaciclina pegilada, tal como treprostínil pegilado o beraprost pegilado, puede tener una semivida de liberación en disolución acuosa o tampón de al menos 12 horas, o al menos 15 horas, o al menos 18 horas, o al menos 21 horas, o al menos 24 horas, o al menos 27 horas, o al menos 30 horas, o al menos 36 horas, o al menos 42 horas, o al menos 48 horas, o al menos 54 horas, o al menos 60 horas, o al menos 72 horas, o al menos 84 horas, o al menos 96 horas, o al menos 5 días, o al menos 6 días, o al menos 7 días, o al menos 8 días, o al menos 9 días, o al menos 10 días, o al menos 11 días, o al menos 12 días, o al menos 13 días. En algunas realizaciones, una formulación de "liberación lenta" de prostaciclina pegilada, tal como treprostínil pegilado o beraprost pegilado, puede tener una semivida de liberación en plasma, que puede ser el plasma de un mamífero, tal como un ser humano, de al menos 12 horas, o al menos 15 horas, o al menos 18 horas, o al menos 21 horas, o al menos 24 horas, o al menos 27 horas, o al menos 30 horas, o al menos 36 horas, o al menos 42 horas, o al menos 48 horas, o al menos 54 horas, o al menos 60 horas, o al menos 72 horas, o al menos 84 horas, o al menos 96 horas, o al menos 5 días, o al menos 6 días, o al menos 7

días, o al menos 8 días, o al menos 9 días, o al menos 10 días, o al menos 11 días, o al menos 12 días, o al menos 13 días.

5 Los procedimientos de la presente divulgación pueden permitir la producción de prostaciclina pegiladas, tales como treprostinil pegilado o beraprost pegilado, a una mayor escala. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el procedimiento de la presente divulgación puede permitir la producción de al menos 5 g de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado o beraprost pegilado, o al menos 10 g, o al menos 20 g o al menos 30 g o al menos 40 g o al menos 50 g o al menos 60 g o al menos 70 g o al menos 80 g o al menos 90 g o al menos 100 g o al menos 110 g o al menos 120 g o al menos 130 g o al menos 140 g o al menos 150 g o al menos 160 g o al menos 170 g o al menos 180 g o al menos 190 g o al menos 200 g.

Una realización proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



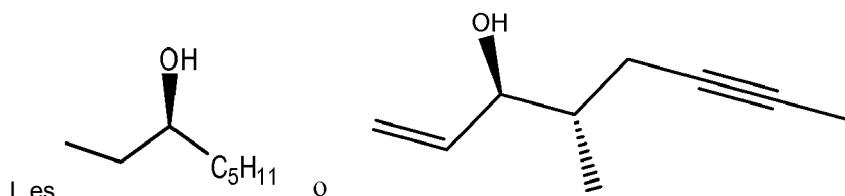
15

en la que

X es O o CH₂;

20

Z es O o CH₂;



25

p=0 o 1;

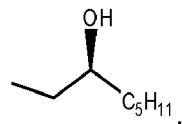
r=1-8;

t=1, 2 o 3; y

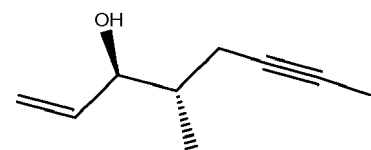
30

w=1, 2 o 3.

En algunas realizaciones, X es O, w es 1, r es 6; t es 2 y L es

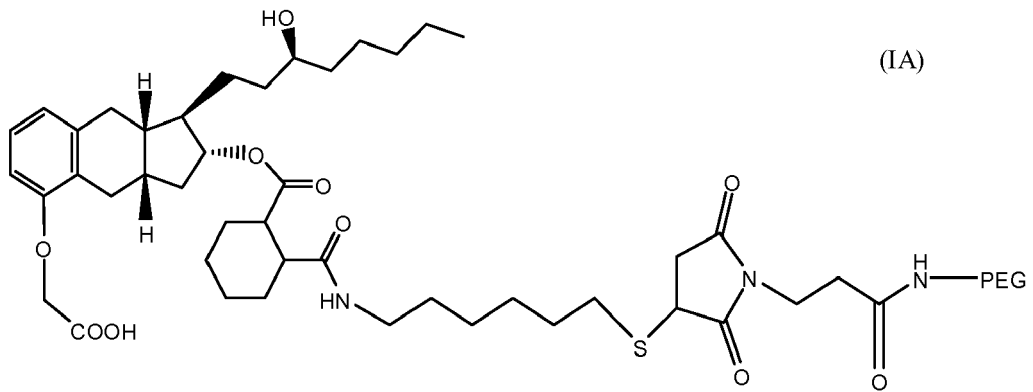


35 En algunas realizaciones, X es CH₂, w es 2, r es 6; t es 2 y L es

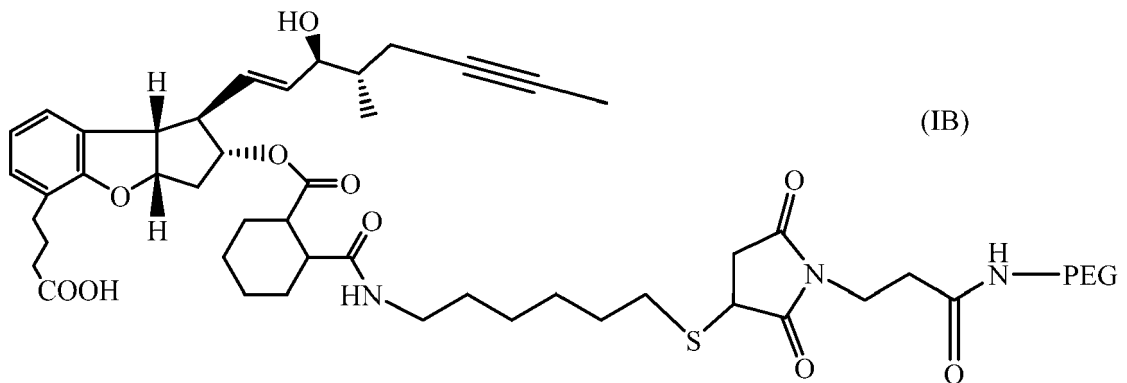


40

En una realización, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IA:

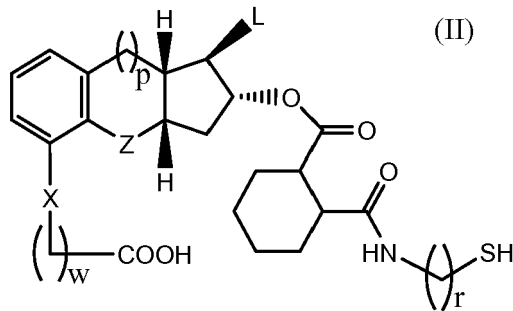


En otra realización, el compuesto de fórmula I tiene la fórmula IB:



5

Otra realización proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula II, o un hidrato, solvato, profármaco, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

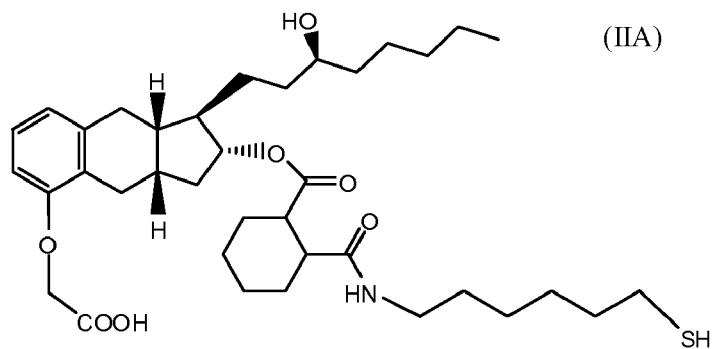


10

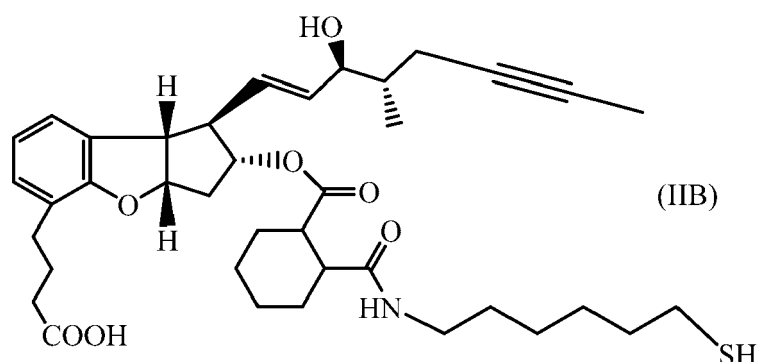
en la que Z, L, p, r, t y w son tal como se definen en el presente documento.

En una realización, el compuesto de fórmula II tiene la fórmula IIA:

15

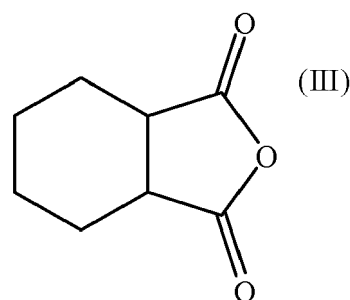


En otra realización, el compuesto de fórmula II tiene la fórmula IIB:



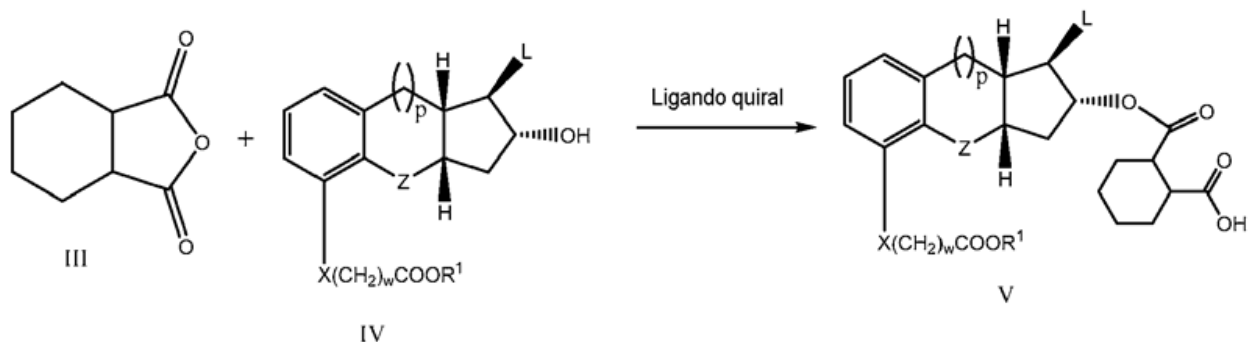
Una realización proporciona un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I, un hidrato, solvato, profármaco, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, partiendo de un anhídrido *meso* de fórmula III.

5



En una realización, el anhídrido *meso* de fórmula III puede acoplarse directamente con un compuesto de éster de fórmula IV en presencia de un ligando quiral, para proporcionar un compuesto de fórmula V.

10



en la que L, X, Z, p, w y R¹ son tal como se definen en el presente documento.

15 Los ligandos quirales adecuados incluyen, pero no se limitan a, quinina, quinidina, cinchonina, cinchonidina, hidroquinina, epiquinidina, epicinchonidina, epicinchonina y epiquinina, o derivados de las mismas. En algunas realizaciones, el ligando quiral es un derivado de quinina o quinidina. En algunas realizaciones, el ligando quiral se selecciona de antraquinona-1,4-diil diéter de hidroquinina ((DHQ)₂AQN), antraquinona-1,4-diil diéter de hidroquinidina ((DHQD)₂AQN), 1,4-ftalazinadiil diéter de hidroquinina ((DHQ)₂PHAL), 1,4-ftalazinadiil diéter de hidroquinidina ((DHQD)₂PHAL), β-isoquinidina (β-IQD) y similares. En una realización, el ligando quiral es (DHQ)₂AQN o (DHQD)₂AQN.

20

En algunas realizaciones, un disolvente para el acoplamiento del anhídrido *meso* de fórmula III con el compuesto éster de fórmula IV en presencia de un compuesto quiral para formar el compuesto de fórmula V puede ser un alcohol. Los alcoholes adecuados serán evidentes para un experto en la técnica e incluyen, pero no se limitan a metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, n-butanol, isobutanol, ciclohexanol, alcohol alílico, alcohol bencílico, alcohol metoxibencílico, alcohol nitrobencílico, alcohol clorobencílico, difenilmetanol, alcohol ciclohexilmetílico, alcohol cinamílico y similares. En realizaciones ilustrativas, el alcohol es alcohol bencílico. En algunas realizaciones, un disolvente para el acoplamiento del anhídrido *meso* de fórmula III con el compuesto éster de fórmula IV en presencia de un agente quiral para formar el compuesto de fórmula V puede ser un disolvente aromático, preferiblemente un disolvente aromático no polar, tal como tolueno.

30

Las temperaturas adecuadas para la reacción son menores de aproximadamente 100 °C, menores de

aproximadamente 80 °C, menores de aproximadamente 60 °C, menores de aproximadamente 40 °C, menores de aproximadamente 20 °C, menores de aproximadamente 0 °C, o cualquier otra temperatura adecuada. En algunas realizaciones, la reacción se efectúa a temperatura ambiente. Los tiempos de reacción adecuados dependen de la temperatura y otras condiciones, y pueden ser menores de aproximadamente 30 horas, menores de aproximadamente 20 horas, menores de aproximadamente 10 horas, menores de aproximadamente 5 horas, menores de aproximadamente 2 horas, menores de aproximadamente 1 hora, o cualquier otro tiempo adecuado. Tiempos más largos pueden ser también adecuados.

En algunas realizaciones, el acoplamiento del anhídrido *meso* de fórmula III con el compuesto éster de fórmula IV en presencia de un compuesto quiral para formar el compuesto de fórmula V puede comprender formar en primer lugar una sal del agente quiral, tal como quinina, y el compuesto de fórmula V, y luego hacer reaccionar la sal formada con un ácido, tal como por ejemplo HCl, para formar el compuesto de fórmula V como un ácido. En algunas realizaciones, la sal del agente quiral, tal como quinina, y el compuesto de fórmula V pueden cristalizarse. Tal etapa de cristalización puede incrementar una pureza óptica elevada del compuesto de fórmula V (como un ácido). La pureza del estereoisómero deseado del compuesto de fórmula V puede ser al menos o mayor del 90 % o al menos o mayor del 91 % o al menos o mayor del 92 % o al menos o mayor del 93 % o al menos o mayor del 94 % o al menos o mayor del 95 % o al menos o mayor del 96 % o al menos o mayor del 97 % o al menos o mayor del 98 % o al menos o mayor del 99 % o al menos o mayor del 99,1 % o al menos o mayor del 99,2 %.

La reacción de cristalización puede realizarse en varios disolventes. Por ejemplo, los disolventes adecuados incluyen pero no se limitan a, acetona, hexano, heptano, ciclohexano, acetonitrilo, tolueno, etileno, acetato de etilo, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol, *tert*-butanol, etilenglicol, dioxano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, dimetoxietano, dietilenglicol, dimetil éter, tetrahidrofurano, diisopropil éter, metiletil cetona o isobutilmetil cetona, dimetilformamida, dimetilacetamida, MTBE o N-metilpirrolidona y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la composición del disolvente incluye una mezcla de disolventes binaria por ejemplo, acetato de etilo-hexano, acetato de etilo-heptano, alcohol isopropílico-heptano y similares.

Los ácidos adecuados, que pueden utilizarse para la neutralización de la sal del agente quiral y el compuesto de fórmula V incluyen, pero no se limitan a, ácidos débiles tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido nítrico diluidos o cualquier ácido orgánico débil tal como ácido acético y ácido para-toluenosulfónico, o ácidos sulfónicos basados en polímeros tales como Amberlyst y similares.

El compuesto de fórmula V puede acoplarse luego con un compuesto de fórmula VI, en condiciones de acoplamiento adecuadas, para proporcionar un compuesto de fórmula VII



en la que L, X, Z, p, r, w, R¹ y R⁴ son tal como se definen en el presente documento.

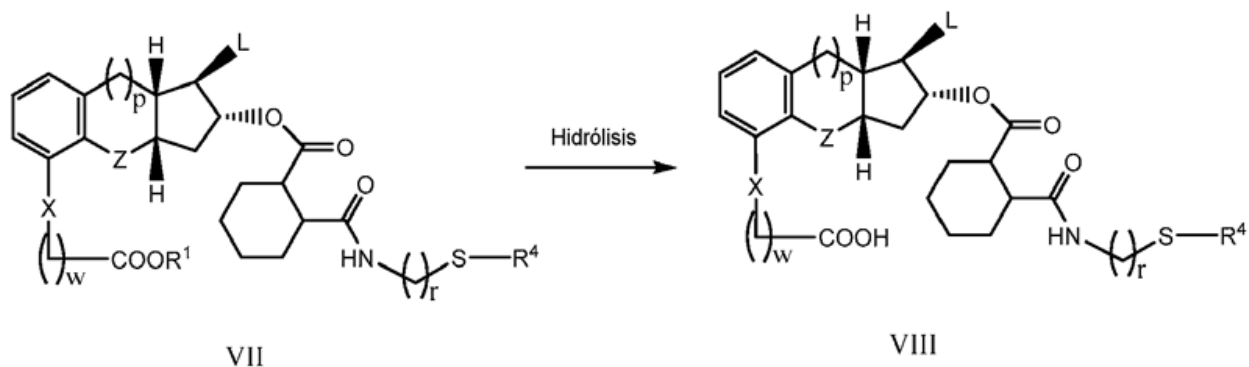
Las condiciones adecuadas para acoplar la amina de fórmula VI al grupo ácido carboxílico del compuesto de fórmula V serán evidentes para un experto en la técnica. En algunas realizaciones, el acoplamiento se efectúa en un disolvente adecuado en presencia de un agente de acoplamiento. Los agentes de acoplamiento adecuados incluyen, pero no se limitan a, clorhidrato de N-etil-N'-[3-(dimetilamino)propil]-carbodiimida (EDC), dicitlohexilcarbodiimida (DCC), diisopropilcarbodiimida, N-hidroxibenzotriazol (HOBT), 4,5-dicianoimidazol, dicitlopentilcarbodiimida, clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, 1,1'-carbonildiimidazol, ciclohexilisopropilcarbodiimida (CIC), bis[[4-(2,2-dimetil-1,3-dioxolil)]-metil]carbodiimida, cloruro de N,N'-bis(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosfínico (BOP-Cl), un cloruro de ácido, clorformiato de etilo y similares.

Los disolventes adecuados para la reacción de acoplamiento incluyen, pero no se limitan a, un alcohol, por ejemplo, metanol, etanol, alcohol isopropílico, 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, una cetona, por ejemplo, acetona, etil metil cetona, metil isobutil cetona, un hidrocarburo, por ejemplo, tolueno, xileno, hexanos, heptanos, ciclohexano, un hidrocarburo halogenado, por ejemplo, diclorometano, dicloruro de etileno, cloroformo, un éster, por ejemplo, acetato de etilo, acetato de n-propilo, acetato de n-butilo, acetato de t-butilo, un éter, por ejemplo, dietil éter, diisopropil éter, metil t-butil éter, tetrahidrofurano, dioxano, un disolvente aprótico polar, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, dimetilsulfóxido, sulfolano, N-metilpirrolidona, un nitrilo, por ejemplo, acetonitrilo, propionitrilo,

agua; o mezclas de los mismos.

Las temperaturas adecuadas para la reacción de acoplamiento son menores de aproximadamente 100 °C, menores de aproximadamente 80 °C, menores de aproximadamente 60 °C, menores de aproximadamente 40 °C, menores de aproximadamente 20 °C, menores de aproximadamente 0 °C, o cualquier otra temperatura adecuada. Los tiempos de reacción de acoplamiento adecuados dependen de la temperatura y otras condiciones, y pueden ser menores de aproximadamente 30 horas, menores de aproximadamente 20 horas, menores de aproximadamente 10 horas, menores de aproximadamente 5 horas, menores de aproximadamente 2 horas, menores de aproximadamente 1 hora, o cualquier otro tiempo adecuado. Tiempos más largos pueden ser también adecuados.

El compuesto de fórmula VII puede hidrolizarse luego con un agente hidrolizante para formar un compuesto de fórmula VIII para retirar el grupo protector de ácido carboxílico.



en la que L, X, Z, p, r, w y R⁴ son tal como se definen en el presente documento.

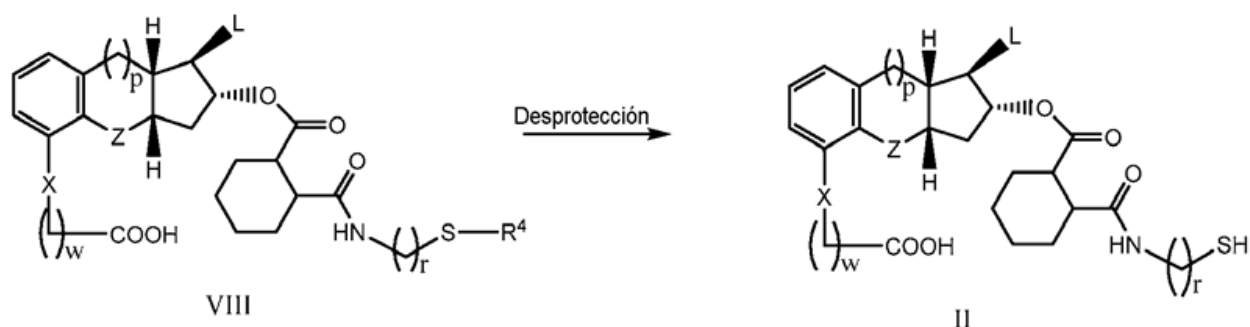
Los grupos protectores de ácido carboxílico R¹ adecuados se conocen en la técnica e incluyen los derivados éster de un grupo ácido carboxílico empleados comúnmente para bloquear o proteger el grupo ácido carboxílico mientras que se llevan a cabo reacciones en otros grupos funcionales en el compuesto. Los grupos de protección de ácido carboxílico incluyen alilo, 4-nitrobencilo, 4-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo, 2,4-dimetoxibencilo, 2,4,6-trimetoxibencilo, 2,4,6-trimetilbencilo, pentametilbencilo, 3,4-metilendioxbencilo, bencidrido, 4,4'-dimetoxibencidrido, 2,2',4,4'-tetrametoxibencidrido, t-butilo, t-amilo, tritilo, 4-metoxitritilo, 4,4'-dimetoxitritilo, 4,4',4''-trimetoxitritilo, 2-fenilprop-2-ilo, trimetilsililo, t-butildimetilsililo, fenacilo, 2,2,2-tricloroetilo, b-(tri-metilsilil)etilo, b-(di(n-butil)metilsilil)etilo, p-toluenosulfoniletilo, 4-nitrobencilsulfoniletilo, alilo, cinamilo, 1-(trimetilsililmetil)prop-1-en-3-ilo y restos similares. En algunas realizaciones, R¹ es un grupo bencilo, butilo terciario, dimetoxibencilo, nitrobencilo o un dinitrobencilo.

Los agentes hidrolizantes adecuados para la retirada del grupo protector de ácido carboxílico incluyen, pero no se limitan a hidróxido de litio, hidróxido de bario, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de amonio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, hidróxido de trimetilestaño, hidróxido de tributilestaño, paladio-carbono en presencia de hidrógeno en condiciones básicas, y similares y combinaciones de los mismos.

Los disolventes adecuados para la reacción de hidrólisis incluyen, pero no se limitan a, metanol, etanol, alcohol isopropílico, diclorometano, 1,2-dicloroetano, cloroformo, acetona, etil metil cetona, metil isobutil cetona, acetato de etilo, acetato de n-propilo, 1,4-dioxano, acetato de n-butilo, acetato de t-butilo, dietil éter, dimetil éter, diisopropil éter, tolueno, xileno, acetonitrilo, propionitrilo, metil *terc*-butil éter, tetrahydrofurano, butironitrilo, o sus mezclas. En algunas realizaciones los disolventes alcohólicos son metanol, etanol y alcohol isopropílico se utilizan con agentes hidrolizantes tales como hidróxido de bario y de litio. En una realización ilustrativa, el compuesto de fórmula VII se hidroliza usando trimetilestaño en presencia de disolvente dicloroetano.

Las temperaturas adecuadas para la reacción de hidrólisis son menores de aproximadamente 100 °C, menores de aproximadamente 80 °C, menores de aproximadamente 60 °C, menores de aproximadamente 40 °C, menores de aproximadamente 20 °C, menores de aproximadamente 0 °C, o cualquier otra temperatura adecuada.

El compuesto de fórmula VIII puede someterse luego a desprotección para retirar el grupo protector de tiol para formar el compuesto de fórmula II

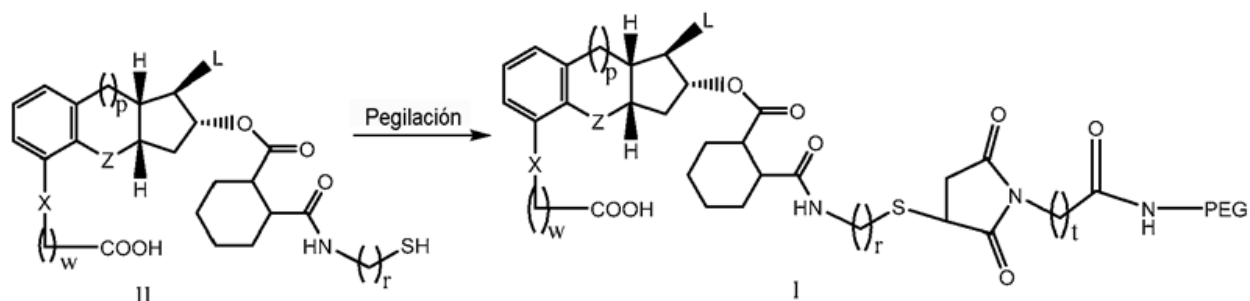


en la que L, X, Z, p, r, w y R⁴ son tal como se definen en el presente documento.

5 Los grupos de protección de tiol adecuados se conocen en la técnica e incluyen bencilo, 4-metoxibencilo (MBzl), trifenilmetilo (trilito), metoxitritilo, *terc*-butilo (tBu), t-butiltiol, acetilo, 3-nitro-2-piridinosulfenilo y acetamidometilo (Acm).

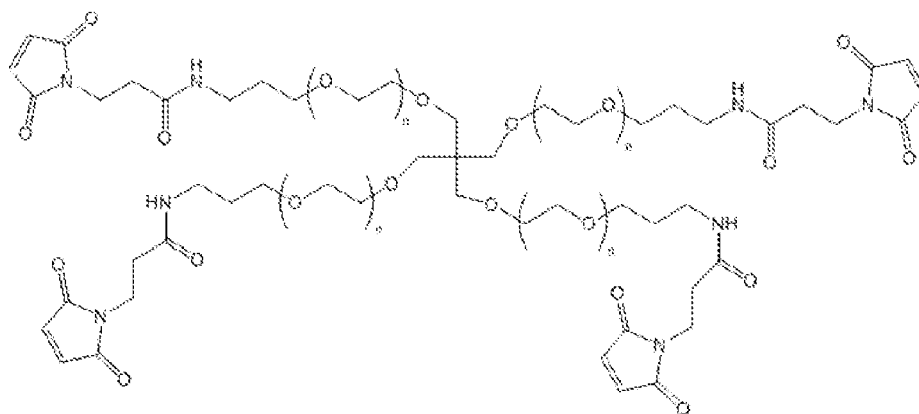
10 El grupo protector de tiol R⁴ puede retirarse selectivamente usando agentes de desprotección conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, el grupo de protección de tiol puede retirarse con un ácido, por ejemplo, ácidos minerales tales como ácido clorhídrico y ácidos orgánicos acuosos o anhidros, por ejemplo, ácidos carboxílicos tales como ácido acético, TFA, o ácidos sulfónicos tales como ácido metanosulfónico. En algunas realizaciones, el grupo de protección de tiol puede retirarse por escisión oxidativa, por ejemplo mediante tratamiento con mercurio (II), yodo, plata (I) o talio (III). En algunas realizaciones, el ácido puede usarse junto con un agente oxidante tal como DMSO, tetrametilensulfóxido, superóxido de potasio, peróxido de níquel, tritiocarbonato de sodio, carbonato de trifenilbismuto y similares. En algunas realizaciones, el grupo protector de tiol es un grupo trilito. En algunas realizaciones, el grupo trilito puede retirarse usando ácido trifluoroacético. En algunas realizaciones, el grupo trilito puede retirarse usando acrilato de 1,1,1,3,3,3-hexafluoroisopropilo (HFIPA) y trietilsilano (TES).

20 El compuesto de fórmula II puede acoplarse con un compuesto de maleimida de polietilenglicol adecuado para formar el compuesto de fórmula I.



25 en la que L, Z, p, r, t y w son tal como se definen en el presente documento.

En una realización, el compuesto de maleimida de polietilenglicol tiene la siguiente estructura

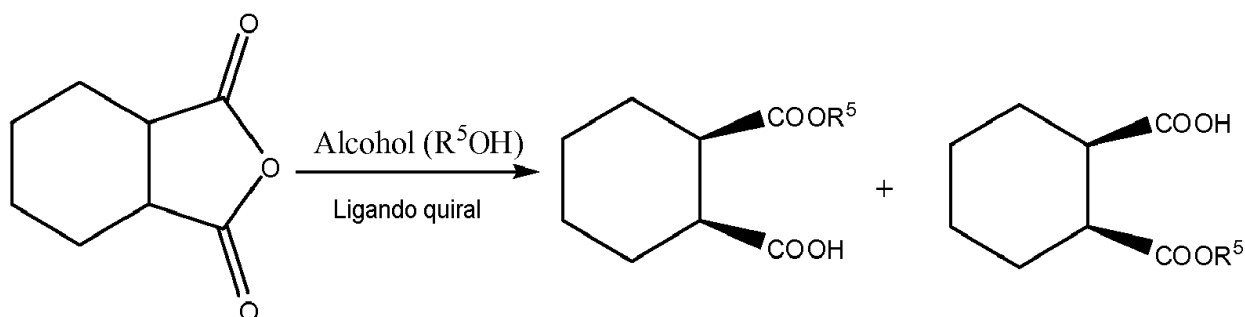


30 El resto de PEG (resto de polietilenglicol) incluye polietilenglicoles preferidos que tienen un peso molecular promedio de desde aproximadamente 200 hasta aproximadamente 200.000. En algunas realizaciones, el polietilenglicol tiene

un peso molecular promedio de desde aproximadamente 200 hasta aproximadamente 80000. En algunas realizaciones, los polietilenglicoles son PEG 1500, PEG 4000, PEG 5000, PEG 8000, PEG 10.000, PEG 15.000, PEG 20.000 y PEG 25.000. En algunas realizaciones, el polietilenglicol es PEG 20.000.

5 El tiol de unión puede ponerse en contacto con el compuesto de PEG en un disolvente adecuado al pH adecuado. El pH puede mantenerse en el valor deseado usando un tampón adecuado. Por ejemplo, el pH puede mantenerse a aproximadamente 6,5 usando un tampón fosfato. Los disolventes adecuados para la reacción incluyen, pero no se limitan a, acetona, hexano, heptano, ciclohexano, acetonitrilo, tolueno, etileno, acetato de etilo, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol, *terc*-butanol, etilenglicol, dioxano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, dimetoxietano, dietilenglicol, dimetil éter, tetrahidrofurano, diisopropil éter, metil etil cetona o isobutil metil cetona, dimetilformamida, dimetilacetamida o N-metilpirrolidona y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la composición de disolvente incluye una mezcla de disolventes binaria, por ejemplo, acetona-hexano, acetato de etilo-hexano, acetona-agua, agua-octano, etanol-agua, hexano-ciclohexano, hexano-etanol, cloroformo-hexano, dietil éter-agua, etanol-metanol, agua-diclorometano y similares.

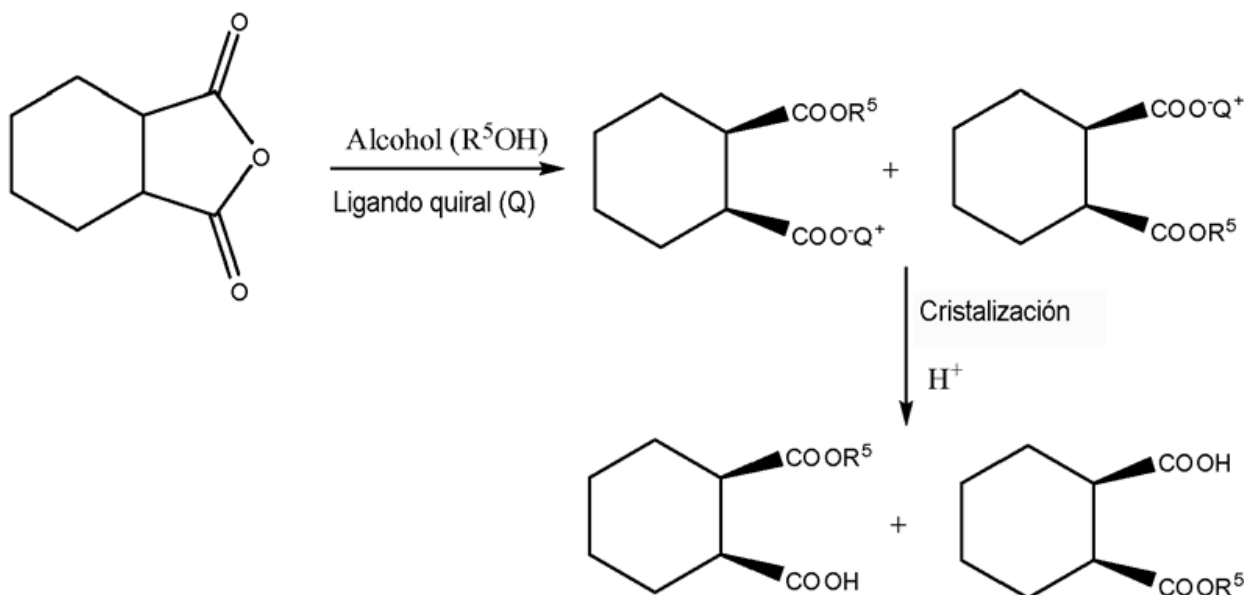
15 Tal como se describe en el presente documento, el anhídrido *meso* de fórmula III puede desimetrizarse en hemiésteres quirales usando ligandos quirales en presencia de alcoholes adecuados descritos en el presente documento.



20

en el que R^5 es alquilo C_{1-6} , alilo, o un grupo arilo.

25 Tal como se describe en el presente documento, el anhídrido *meso* de fórmula III puede desimetrizarse en dos etapas. El anhídrido *meso* puede tratarse en primer lugar con un ligando quiral, en presencia de un alcohol adecuado tal como los descritos anteriormente, para producir hemiésteres quirales como sus sales de amina respectivas. Las sales de amina pueden cristalizarse luego en una composición de disolvente adecuada, seguido por neutralización con ácido débil para obtener ambos hemiésteres quirales.



30

en los que R^5 es alquilo C_{1-6} , alilo o un grupo arilo.

35 Los ligandos quirales y alcoholes adecuados para monoesterificación asimétrica serán evidentes para un experto en la técnica y son tal como se describen en el presente documento. En algunos casos, el ligando quiral es un derivado

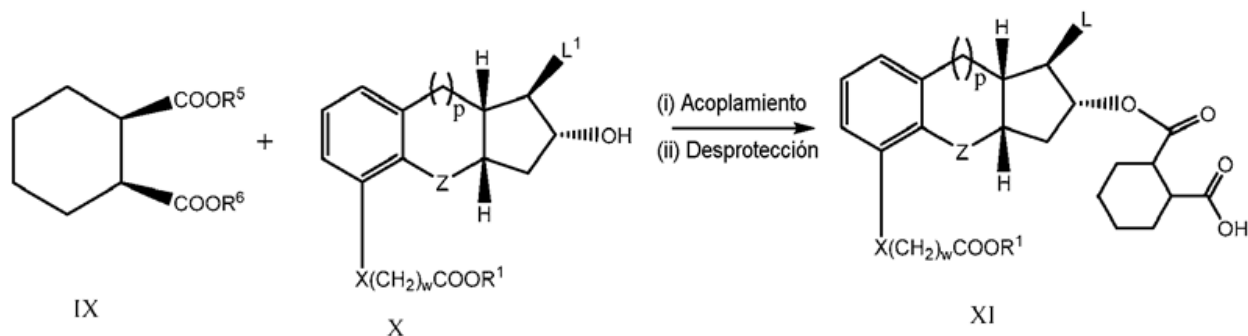
de quinina o uno de quinidina. En algunos casos, el alcohol es alcohol bencilico.

La composición de disolvente adecuada utilizada para cristalización de la sal de amina incluye, pero no se limita a, acetona, hexano, heptano, ciclohexano, acetonitrilo, tolueno, etileno, acetato de etilo, metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol, *terc*-butanol, etilenglicol, dioxano, 1,2-dicloroetano, diclorometano, dimetoxietano, dietilenglicol, dimetil éter, tetrahidrofurano, diisopropil éter, metil etil cetona o isobutil metil cetona, metil *terc*-butil éter (MTBE), dimetilformamida, dimetilacetamida o N-metilpirrolidona y mezclas de los mismos. En algunas realizaciones, la composición de disolvente incluye una mezcla de disolventes binaria, por ejemplo, acetona-hexano, acetato de etilo-hexano, acetona-agua, alcohol isopropílico:MTBE, agua-octano, etanol-agua, hexano-ciclohexano, hexano-etanol, cloroformo-hexano, dietil éter-agua, etanol-metanol, agua-diclorometano y similares.

Los ácidos adecuados utilizados para neutralización de la sal de amina serán evidentes para un experto en la técnica e incluyen, pero no se limitan a, ácidos débiles tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido nítrico diluidos o cualquier ácido orgánico débil tal como ácido acético y ácido para-toluenosulfónico, o ácidos sulfónicos basados en polímeros tales como Amberlyst y similares.

Usando los métodos descritos anteriormente, los hemiésteres se obtienen en pureza óptica elevada, por ejemplo, al menos o mayor del 90 %, al menos o mayor del 91 %, al menos o mayor del 92 %, al menos o mayor del 93 %, al menos o mayor del 94 %, al menos o mayor del 95 % o al menos o mayor del 96 %, al menos o mayor del 97 %, al menos o mayor del 98 %, al menos o mayor del 99 %, al menos o mayor del 99,1 %, al menos o mayor del 99,2 %, al menos o mayor del 99,3 %, al menos o mayor del 99,4 %, al menos o mayor del 99,5 %. En algunas realizaciones, los hemiésteres producidos por los presentes métodos están sustancialmente puros. En otras realizaciones, los hemiésteres producidos por los presentes métodos son más puros que aproximadamente el 99 %.

El hemiéster de fórmula IX puede acoplarse con un compuesto de fórmula X en condiciones de acoplamiento adecuadas.



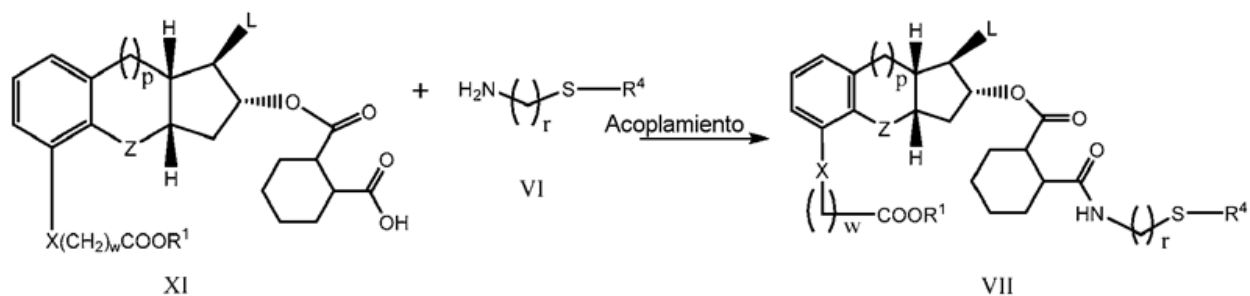
en las que L^1 , X , Z , p , w , R^1 , R^5 y R^6 son tal como se definen en el presente documento.

Se conocen en la técnica las condiciones adecuadas para acoplar un ácido carboxílico IX con un alcohol X. Los agentes adecuados incluyen agentes de esterificación tales como ácidos de Lewis o de Bronstead, o agentes de acoplamiento tales como EDC o DCC, opcionalmente en presencia de un catalizador tal como 4-dimetilaminopiridina.

El grupo ácido carboxílico en la cadena lateral que contiene ciclohexano ($COOR^5$ o $COOR^6$) puede desprotegerse selectivamente usando métodos conocidos en la técnica y descritos en el presente documento. Por ejemplo, los agentes de desprotección para la retirada del grupo protector de ácido carboxílico incluyen, pero no se limitan a hidróxido de litio, hidróxido de bario, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de calcio, hidróxido de amonio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, hidróxido de trimetilestaño, hidróxido de tributilestaño, paladio-carbono en presencia de hidrógeno en condiciones básicas y similares y combinaciones de los mismos.

Se conocen en la técnica grupos de protección hidroxilo adecuados R^2 , en el grupo de unión L^1 , e incluyen, pero no se limitan a grupo metilo, t-butilo, tetrahidropiraniolo, bencilo, metoxibencilo, nitrobencilo, *terc*-butil dimetilsililo, grupo *terc*-metil dimetilsililo, metoximetilo, metoxietoximetilo, alilo, tritilo, etoxietilo, 1-metil-1-metoxietilo, tetrahidropiraniolo, o tetrahidrotiopiraniolo. En una realización el grupo de protección de hidroxilo es tetrahidropiraniolo (THP). En algunas realizaciones, el grupo de protección de hidroxilo puede escindirse en condiciones de acoplamiento. En otras realizaciones, el grupo de protección de hidroxilo se escinde en condiciones adecuadas, tales como las descritas en el presente documento. Por ejemplo, el grupo de protección de hidroxilo puede escindirse usando una cantidad catalítica de un ácido tal como ácido p-toluenosulfónico.

El compuesto de fórmula XI puede acoplarse luego con un compuesto de fórmula VI para proporcionar un compuesto de fórmula VII.



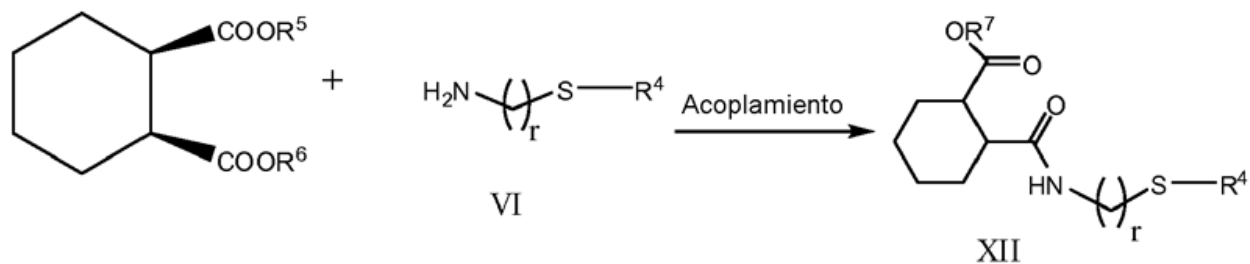
en las que L^1 , X, Z, p, r, w, R^1 y R^4 son tal como se definen en el presente documento.

- 5 Las condiciones de acoplamiento adecuadas serán evidentes para un experto en la técnica y se describen en el presente documento para el acoplamiento del compuesto de fórmula V con el compuesto de fórmula VI.

10 El compuesto de fórmula VII se somete a desprotección del grupo de protección de ácido carboxílico y el grupo de protección de tior, para proporcionar un compuesto de fórmula II. Ambos grupos de protección pueden escindir en una etapa individual usando un ácido fuerte, tal como por ejemplo, ácido trifluoroacético. Alternativamente, el grupo de protección de ácido carboxílico se escinde en primer lugar, seguido por la retirada del grupo de protección de tior usando las condiciones descritas en el presente documento.

15 El compuesto de fórmula II puede acoplarse adicionalmente con un compuesto de maleimida de polietilenglicol, tal como se describe en el presente documento, para proporcionar el compuesto de fórmula I.

En un caso alternativo, el hemiéster de fórmula IX puede acoplarse con un compuesto de fórmula VI, en condiciones de acoplamiento adecuadas para proporcionar un compuesto de fórmula XII



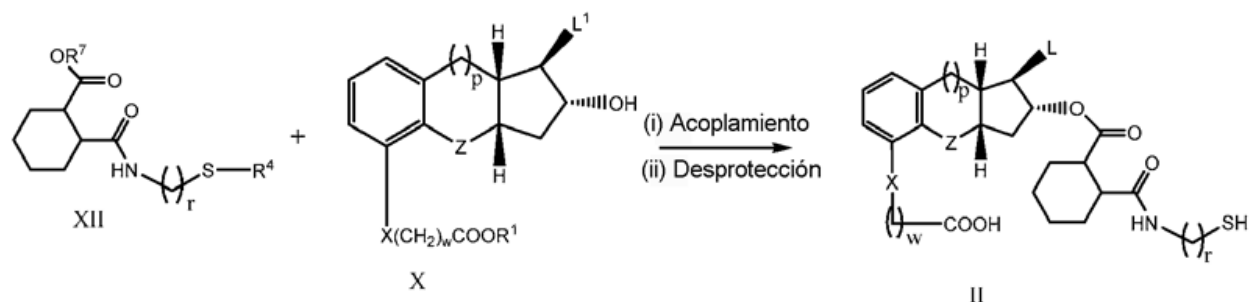
20 IX

en las que L^1 , Z, p, r, w, R^4 , R^5 y R^6 son tal como se definen en el presente documento, y R^7 es un grupo protector de ácido.

- 25 Las condiciones adecuadas para acoplar la amina de fórmula VI al grupo ácido carboxílico de compuesto de fórmula IX serán evidentes para un experto en la técnica y se describen en el presente documento.

30 En el compuesto de fórmula XII, en la que R^7 es un grupo protector de ácido. Los grupos protectores de ácidos adecuados son tal como se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, R^7 es un grupo alquilo C_{1-6} .

35 El compuesto de fórmula XII puede acoplarse luego con un compuesto de fórmula X, seguido por desprotección con catalizador para formar el compuesto de fórmula II. El compuesto de fórmula II puede acoplarse adicionalmente con un compuesto de maleimida de polietilenglicol, tal como se describe en el presente documento, para proporcionar el compuesto de fórmula I.



en las que L, L¹, X, Z, p, r, w, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son tal como se definen en el presente documento.

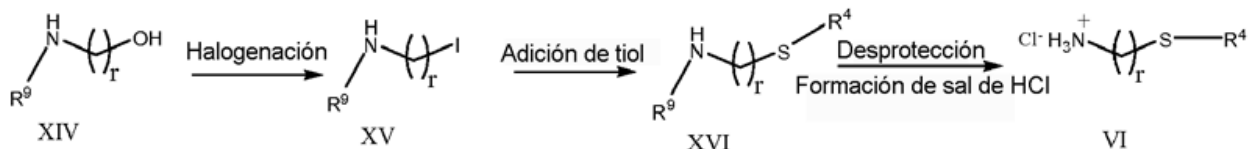
5 Las condiciones adecuadas para acoplar un ácido carboxílico con un alcohol se conocen en la técnica. Los agentes adecuados incluyen agentes de esterificación tales como ácidos de Lewis o de Bronstead, o agentes de acoplamiento tales como EDC o DCC, opcionalmente en presencia de un catalizador tal como 4-dimetilaminopiridina.

10 Las condiciones adecuadas para la retirada de grupo protector de ácido carboxílico R¹ son tal como se describen en el presente documento. El grupo de protección de hidroxilo R² puede retirarse mediante hidrólisis catalizada por ácido o base o por hidrogenólisis catalítica. Por ejemplo, el grupo de protección de tetrahidropiranyl (THP) éter puede retirarse, por ejemplo, mediante hidrólisis ácida, los silil éteres pueden requerir fluoruro de hidrógeno o fluoruro de tetrabutilamonio para escindirse y el grupo de protección de bencil éter puede retirarse, por ejemplo, mediante hidrogenólisis.

15 En un aspecto, un compuesto sustancialmente puro de fórmula I, II, IA, IB, IIA, IIB, V, VII, VIII, IX, X o XI se produce por los procedimientos descritos en el presente documento. Los compuestos tienen tanto pureza química elevada como pureza óptica elevada. En algunas realizaciones la pureza del compuesto de fórmula I es al menos del 90 %, el 95 %, el 97 %, el 99 % o mayor del 99 %. En otras realizaciones, la pureza del compuesto de fórmula II es al menos del 90 %, el 95 %, el 97 %, el 99 % o mayor del 99 %.

20 Los procedimientos proporcionan ventajas en la síntesis a gran escala con respecto a los métodos existentes. Por ejemplo, los procedimientos de síntesis existentes para preparar PEG UT-15 implican separación quiral exhaustiva del grupo de unión deseado y proporciona un rendimiento general bajo del producto final. Los presentes procedimientos proporcionan una síntesis estereoselectiva y fácil de los derivados de prostaciclina pegilados, por ejemplo, PEG UT-15 en buen rendimiento sin la necesidad de separaciones quirales costosas. Además, dado que se elimina la purificación cromatográfica de los productos intermedios y finales, se reduce enormemente, por tanto, la cantidad requerida de disolventes inflamables y residuos generados, así como el coste de producción. Además, los métodos de formación de sales utilizados en los presentes procedimientos son una operación mucho más sencilla que la cromatografía en columna. Los productos de los procedimientos tienen mayor pureza; por ejemplo, los presentes procedimientos proporcionan un isómero individual del tiol de unión que tiene una pureza óptica mayor del 99 % mediante HPLC. Por tanto, se proporciona un procedimiento que es más económico, seguro, rápido, ecológico, fácil de operar y proporciona mayor pureza.

35 Se describe en el presente documento un procedimiento para preparar el compuesto de amina de fórmula VI.



40 en las que r y R⁴ son tal como se describen en el presente documento, Y es un halógeno y R⁹ es un grupo de protección de amino.

Un aminoalcohol protegido de fórmula XIV puede halogenarse en condiciones adecuadas, para proporcionar el compuesto de fórmula XV. En algunas realizaciones Y es F, Cl, Br o I. En algunas realizaciones Y es I.

45 Las condiciones de halogenación adecuadas incluyen por ejemplo, reacción del compuesto XIV con yodo o bromo en presencia de trifenilfosfina e imidazol, reacción del compuesto XIV con iones clorofosfonio *in situ* preparados por la reacción de tetracloruro de carbono o hexacloroacetona, la reacción de compuesto XIV con clorodifenilfosfina, imidazol y halógeno, y similares.

50 El compuesto halogenado XV puede hacerse reaccionar con un compuesto de protección de tiol adecuado, tal como los descritos en el presente documento, para proporcionar un compuesto protegido de tiol XVI. Por ejemplo, el compuesto halogenado XV puede hacerse reaccionar con trifenilmetanotiol en presencia de la base carbonato de potasio o con 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) en presencia de un disolvente adecuado tal como acetonitrilo o dimetilformamida, respectivamente. La desprotección del grupo de protección de amino en condiciones adecuadas, seguido por tratamiento con un ácido, por ejemplo ácido clorhídrico, proporcionará la sal de ácido del compuesto de amina VI.

55 Se conocen en la técnica compuestos de protección de amino adecuados. Los grupos de protección de amino de ejemplo incluyen, pero no se limitan a grupos tosilato (Tos), benciloxycarbonilo (Cbz), t-butiloxycarbonilo (Boc), acetato y trifluoroacetato. Dependiendo del grupo de protección usado, el grupo de protección de amino puede escindirse en condiciones ácidas o básicas. Por ejemplo, el grupo de protección de trifluoroacetato puede escindirse

60

usando una base, por ejemplo, carbonato de potasio.

El procedimiento para preparar el compuesto de amina de fórmula VI descrito en el presente documento es más limpio y más eficaz que los métodos conocidos. Lo ventajoso del procedimiento incluye eludir el uso de compuestos carcinógenos tales como hidracina hidratada y evitar el uso de cromatografía en columna o trituración repetida para obtener amina pura.

Métodos de síntesis

Se proporcionan también determinados métodos para fabricar los compuestos descritos en el presente documento. Las reacciones se llevan a cabo preferiblemente en un disolvente inerte adecuado que será evidente para el experto en la técnica tras leer esta divulgación, durante un periodo de tiempo suficiente para garantizar la finalización sustancial de la reacción tal como se observa mediante cromatografía en capa fina, ^1H -RMN, etc. Si se necesita acelerar la reacción, la mezcla de reacción puede calentarse, tal como conoce bien el experto en la técnica. Los compuestos intermedios y finales se purifican, si es necesario, mediante diversos métodos conocidos en la técnica tales como cristalización, precipitación, cromatografía en columna y similares, tal como será evidente para el experto en la técnica tras leer esta divulgación.

Las siguientes abreviaturas se usan en la descripción y/o en las reivindicaciones adjuntas y tienen los siguientes significados:

“HPLC” significa cromatografía líquida de alta resolución.

“TFA” significa ácido trifluoroacético.

“THP” significa tetrahidropiraniolo.

“PEG” significa polietilenglicol.

“(DHQ) $_2$ AQN” significa antraquinona-1,4-diil diéter de hidroquinina.

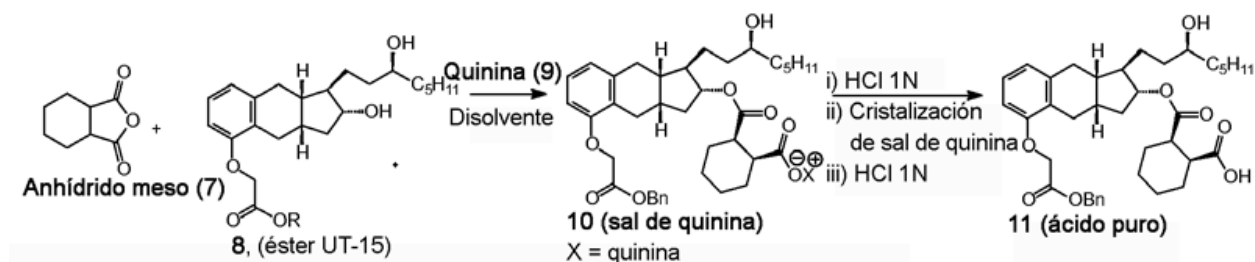
“(DHQD) $_2$ AQN” significa (antraquinona-1,4-diil) diéter de hidroquinidina.

Se muestran esquemáticamente más adelante métodos ilustrativos y no limitativos para sintetizar un compuesto de fórmula (I).

Método general I-Síntesis estereoespecífica/enantioselectiva de derivados de prostaciclina pegilados de anhídridos meso

El esquema 1 demuestra la preparación de un producto intermedio de ácido 11 a partir de anhídrido meso 7. Se sometió el anhídrido meso 7 a desimetrización usando diversos ésteres de treprostínil 8, en presencia de diferentes ligandos quirales particularmente quinina 9 para obtener sal de quinina de sal de ácido 10. Se observó una diferencia significativa en la reactividad de diversos ésteres de treprostínil. Adicionalmente, la selectividad también varía dependiendo del sustituyente. De los diversos ésteres 8a-f sometidos a prueba, se observó que el éster bencílico de treprostínil 8a tenía la mejor selectividad en comparación con otros ésteres. Se neutralizó la sal de quinina de ácido 10 para obtener el producto intermedio de ácido 11. Puede guardarse el producto intermedio de ácido tal cual para las etapas posteriores, o puede purificarse por medio de metodología de formación de sales y neutralización.

Esquema 1: Apertura de anhídrido meso directa con alcohol treprostínílico

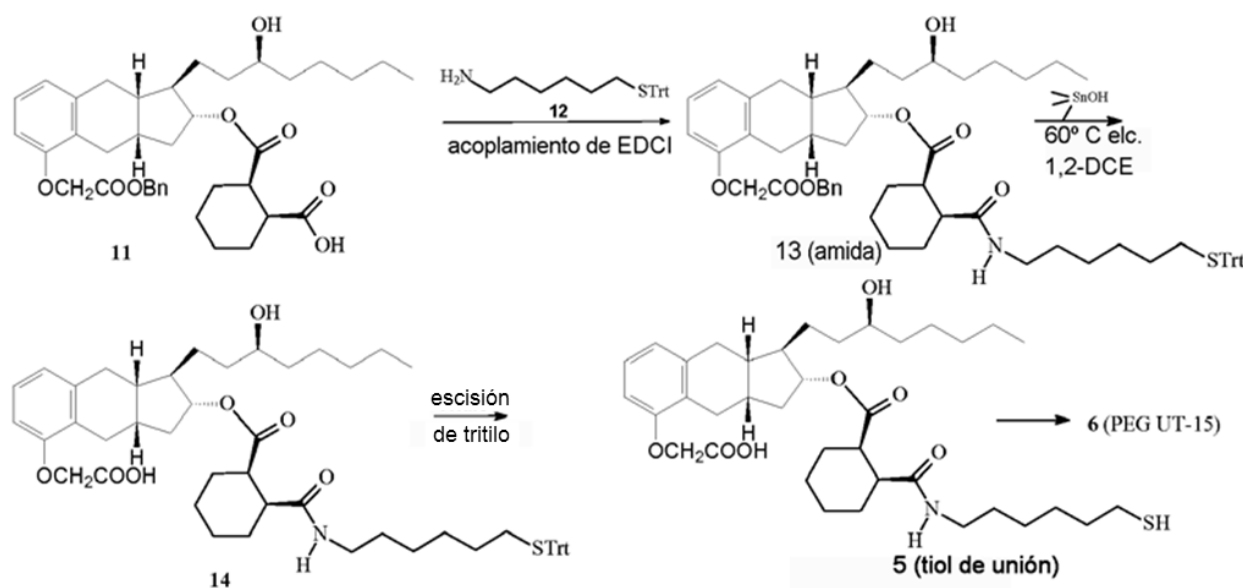


El esquema 2 demuestra la síntesis de tiol de unión 5 a partir de producto intermedio de ácido 11. Se sometió el

producto intermedio de ácido 11 a acoplamiento de cadena lateral de amina 12 para obtener la amida de unión 13. Se sometió esta amida de unión 13 a hidrólisis de éster bencílico en diversas condiciones, por ejemplo, hidróxido de bario, hidróxido de litio y PdC/H₂/K₂CO₃, con el fin de escindir el grupo bencilo en el resto UT-15 de amida 13. Sin embargo, las reacciones o bien condujeron a la formación de algún subproducto o bien no se observó ninguna reacción, debido probablemente a la presencia de azufre en forma de grupo tritilo.

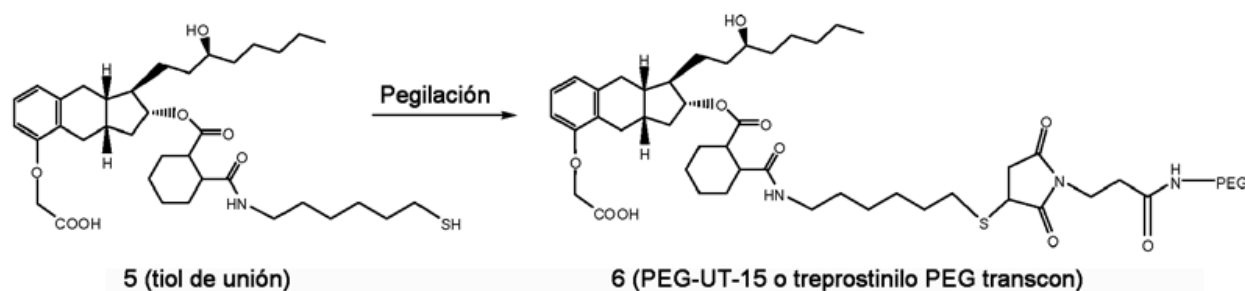
Se hidrolizó selectivamente el producto intermedio de amida 13 a ácido 14 sin afectar el enlace éster UT-15 en el resto de ciclohexano, empleando una hidrólisis muy suave y selectiva de éster bencílico usando hidróxido de trimetilestaño en 1,2-dicloroetano. Se trató el producto intermedio de ácido 14 con TFA conduciendo a escisión del grupo tritilo de la cadena lateral de amina para proporcionar tiol de unión 5. Se confirmó el tiol de unión mediante datos de HPLC y RMN.

Esquema 2: Apertura de anhídrido meso directa con alcohol del éster treprostínico



Tal como se describe en el esquema 3, se sometió el tiol de unión 5 a acoplamiento con maleimida de PEG de 20 KDa de 4 brazos para obtener PEG-UT-15 o treprostínico de PEG TransCon (6).

Esquema 3: Pegilación de tiol de unión a PEG-UT-15

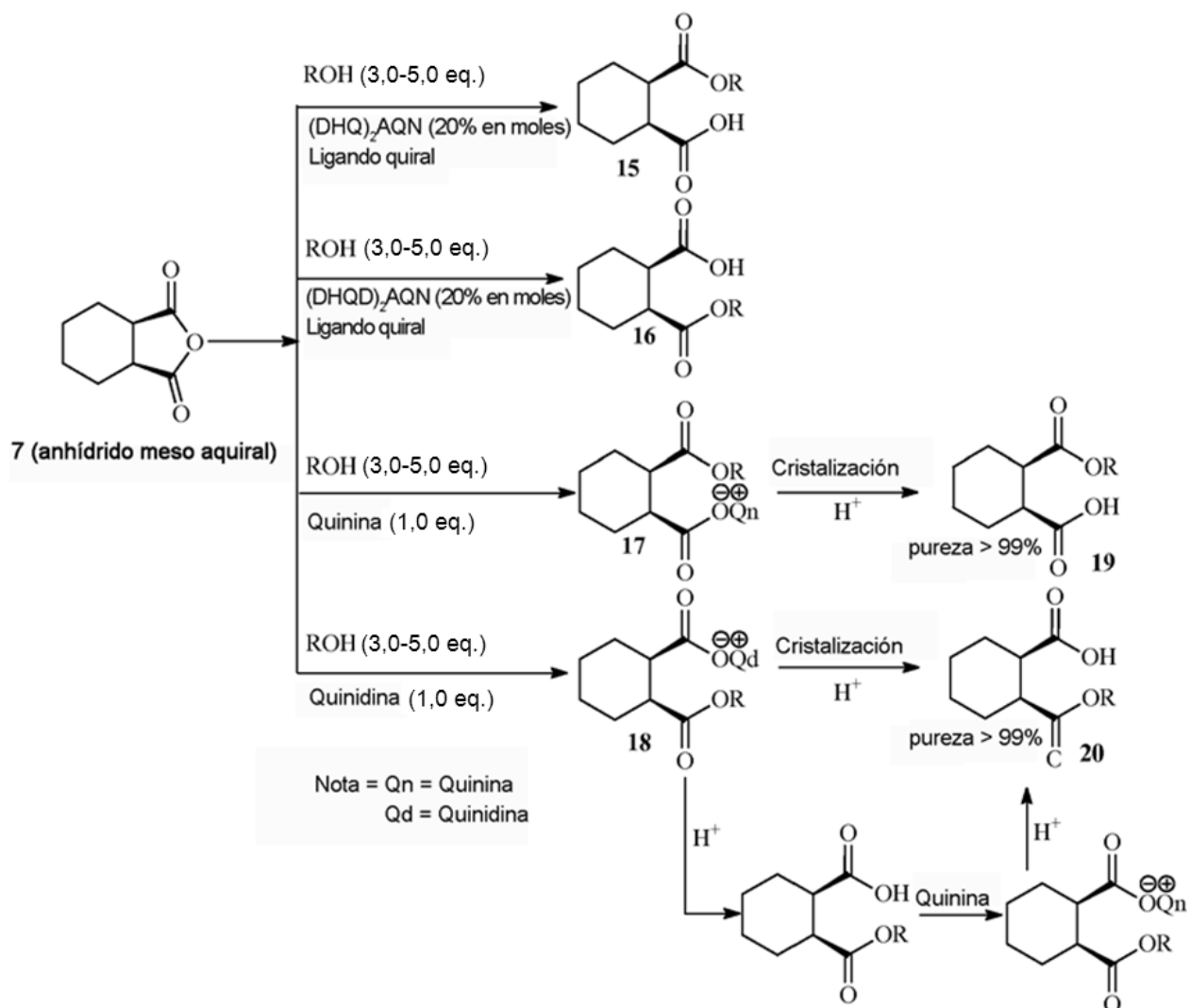


Método general II-Síntesis estereoespecífica/enantioselectiva de derivados de prostaciclina pegilados por medio de hemiésteres quirales

El esquema 4 demuestra la preparación de hemiésteres quirales a partir de anhídrido *meso* aquiral fácilmente disponible. El anhídrido *meso* 7, se desimetrizó directamente a hemiésteres quirales usando diversos alcoholes a los hemiésteres obtenidos 15 y 16. En otra realización, se trató el anhídrido *meso* aquiral 7 con ligandos basados en quinina y quinidina (DHQ)₂AQN y (DHQD)₂AQN en presencia de alcoholes, por ejemplo alcohol bencílico, y se desimetrizó a hemiésteres bencílicos quirales 19 y 20, en una pureza óptica que oscila desde el 91 % al 99 % (pureza mediante HPLC). Los hemiésteres se purificaron adicionalmente por medio de cristalización de sal diastereoisomérica usando quinina como amina quiral. En otra realización, el anhídrido *meso* 7, se trató con quinina y quinidina en presencia de alcohol bencílico y se obtuvieron hemiésteres bencílicos quirales como sus sales de

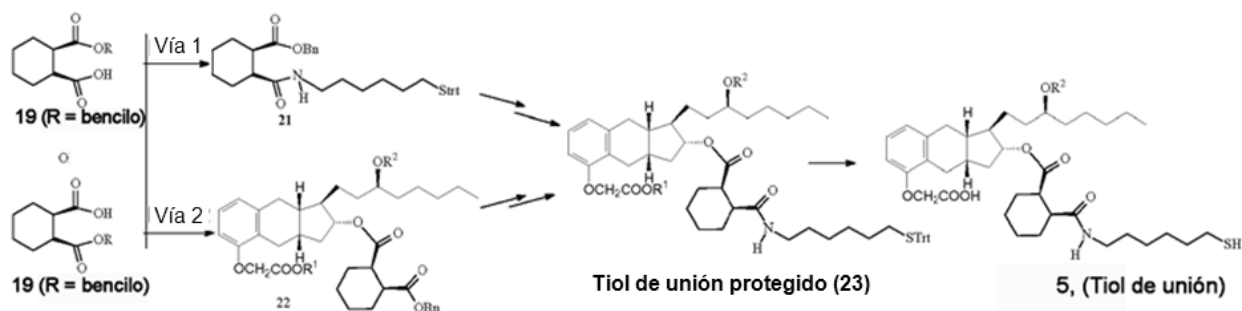
amina respectivas (17 y 18). Se cristalizaron las sales de amina en una mezcla de disolventes binaria (acetona:hexanos o acetato de etilo:hexano) seguido por neutralización con ácido débil (tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido nítrico diluidos o cualquier ácido orgánico débil tal como ácido acético y ácido paratoluenosulfónico, o ácidos sulfónicos basados en polímeros tales como Amberlyst, etc.) para obtener ambos ésteres bencílicos quirales 19 y 20 en una pureza quiral de >99 %.

Esquema 4: Ruta general de desimetrización de anhídrido meso con alcoholes a hemiésteres quirales



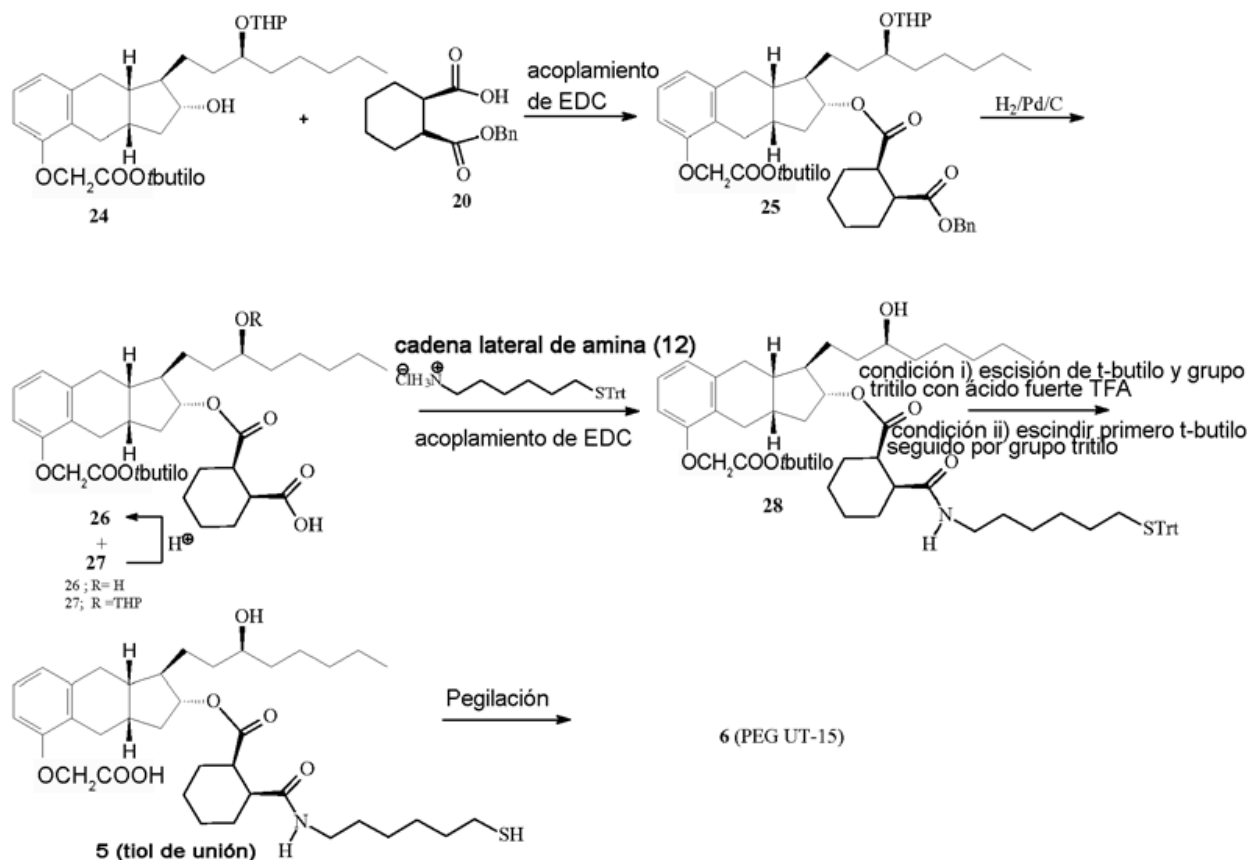
El esquema 5 demuestra las dos vías para la preparación de tior de unión quiral 5 a partir de hemiésteres quirales preparados en el esquema 4. Usando los hemiésteres quirales 19 y 20 como materiales de partida, hay dos vías posibles para obtener el tior de unión quiral 5, que tiene la configuración estereoquímica deseada. En la vía 1, se acopló el hemiéster bencílico quiral 19 con amina para obtener amida de unión 21. Se sometió el producto intermedio de amida de unión 21 a reacción de desbencilación en diversas condiciones de reacción, seguido por acoplamiento con el componente de treprostnil para obtener tior de unión protegido 23, que se desprotege para proporcionar el tior de unión 5. En la vía 2, se acopla el ácido quiral 20 con el componente de treprostnil para obtener producto intermedio de éster de estructura general 22, que se convirtió posteriormente en primer lugar en tior de unión protegido y luego en tior de unión 5, mediante una serie de reacciones representadas en el esquema 6.

Esquema 5: Vías para fabricar grupo de unión acoplado



5 Tal como se representa a continuación en el esquema 6, se acopló éster *tert*-butílico de treprostínil 24 con hemiéster quiral 20 para obtener el producto intermedio de éster bencilico protegido 25 que tras desbencilación usando catalizador de Pd/C proporcionó el producto intermedio de ácido 26. Durante la etapa de desbencilación, se observó escisión de THP del alcohol protegido de cadena lateral debido a la naturaleza ácida inherente de la molécula que tiene un grupo funcional de ácido carboxílico libre. En unos pocos experimentos se observó algún producto intermedio de THP no escindido 27 y se obtuvo mezcla de 26 y 27. En tales casos, se agitó la mezcla con una cantidad catalítica de ácido *para*-toluenosulfónico para escindir el grupo THP para proporcionar el producto intermedio de ácido 26. Si se desea, esta escisión de THP podría evitarse añadiendo una cantidad catalítica de una base tal como bicarbonato de sodio. Posteriormente, se acopló el producto intermedio de ácido 26 con la cadena lateral de amina 12 para obtener el producto intermedio de unión protegido deseado 28, que se sometió a desprotección de grupos tritilo y *tert*-butilo usando ácido trifluoroacético o mediante un procedimiento de dos etapas para retirar el grupo *t*-butilo en primer lugar usando reactivos ácidos tales como ácidos unidos a polímeros, gel de sílice etc., seguido por escisión de TFA de grupo tritilo para proporcionar finalmente el tiol de unión quiral 5. Se recogieron los datos analíticos y se compararon los datos de HPLC así como los de RMN con la muestra marcadora de referencia obtenida de Ascendis Pharma A/S para confirmar la formación del tiol de unión deseado 5. Se encontró que los datos estaban en consonancia con la estructura deseada del tiol de unión 5. Se amplió el procedimiento en una escala de 5 g. Se sometió luego el tiol de unión 5 a un acoplamiento final con maleimida de PEG de 20 KDa de 4 brazos para obtener PEG-UT-15 (6).

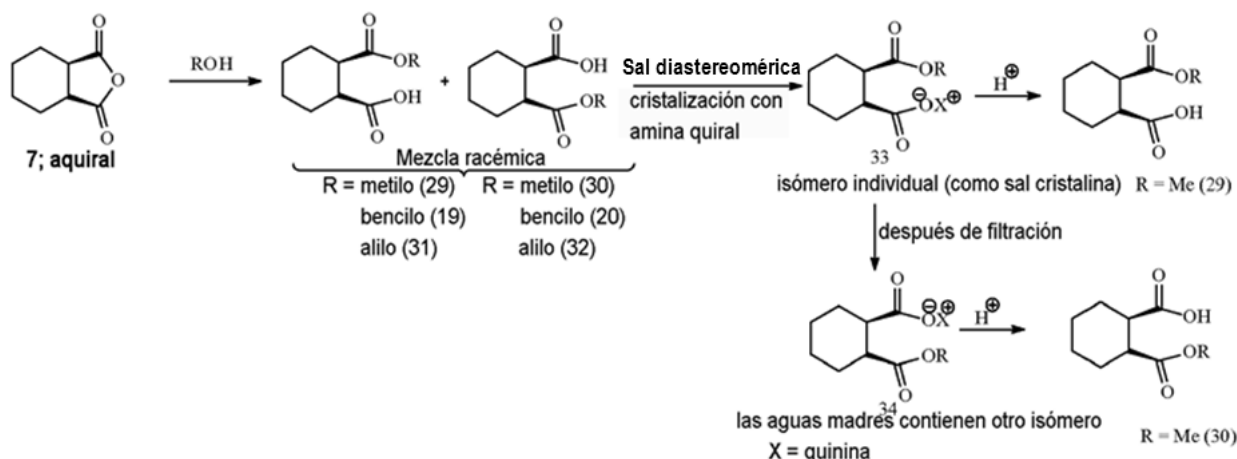
Esquema 6: Acoplamiento por medio de resto de treprostínil para obtener un grupo de unión



Método general III-Síntesis estereoespecífica/enantioselectiva de derivados de prostaciclina pegilados por medio de cristalización de sales diastereoméricas de hemiésteres

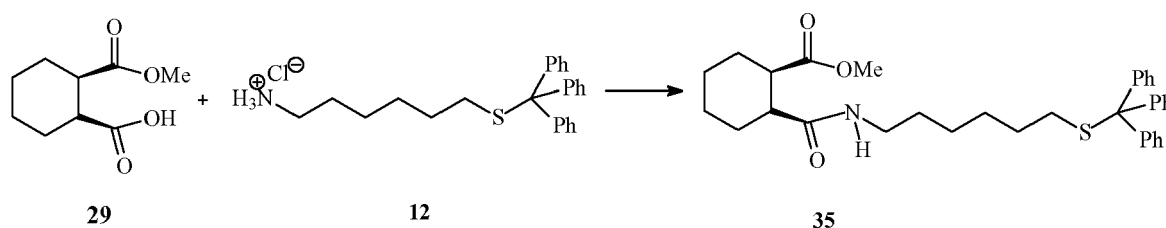
5 Tal como se representa en el esquema 7, se trató el anhídrido *meso* 7 con diversos alcoholes tales como alcohol metílico, bencílico y alílico para obtener una mezcla racémica de hemiésteres (29 y 30; R=metilo). Se examinaron también diversos métodos de cristalización de sales diastereoméricas usando aminas quirales tales como quinina, quinidina y nalfetilamina, etc. Se observó que entre el grupo de aminas sometido a prueba, la quinina proporcionó la mejor diastereoselectividad en producir una sal diastereomérica individual 33 del hemiéster deseado 29 con una pureza del 99 %. Se confirmaron todos los resultados mediante datos de ¹H-RMN. Una vez se obtuvo la sal de quinina diastereomérica, se convirtió en el hemiéster quiral requerido (29; R = Me) mediante neutralización simple con HCl 1 N. El hemiéster así obtenido se transfirió para la síntesis de amida de unión. El procedimiento se amplió en escala de 25 g.

15 Esquema 7: Preparación de hemiéster quiral por medio de cristalización de sal diastereomérica



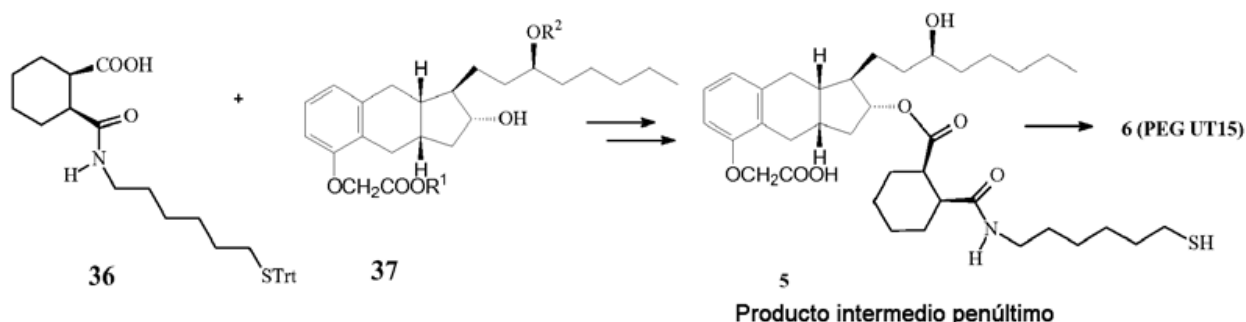
5 Tal como se representa en el esquema 8, se acoplaron el hemiéster quiral 29 y la amina 12 para obtener amida de unión quiral 35 en rendimiento cuantitativo. Los datos de ¹H-RMN revelaron la formación del grupo de unión requerido en la amina 35.

Esquema 8: Acoplamiento de amina con ácido para obtener grupo de unión



10 Tal como se representa en el esquema 9, la amida de unión quiral 35, obtenida en el esquema 7, puede hidrolizarse para obtener el grupo de unión de amida-ciclohexano quiral deseado 36, que puede acoplarse posteriormente con el componente de treprostínil 37 que conduce a la formación de tiol de unión 5. Luego puede someterse el tiol de unión 5 a acoplamiento final con maleimida de PEG de 20 KDa de 4 brazos para obtener PEG-UT-15 (6).

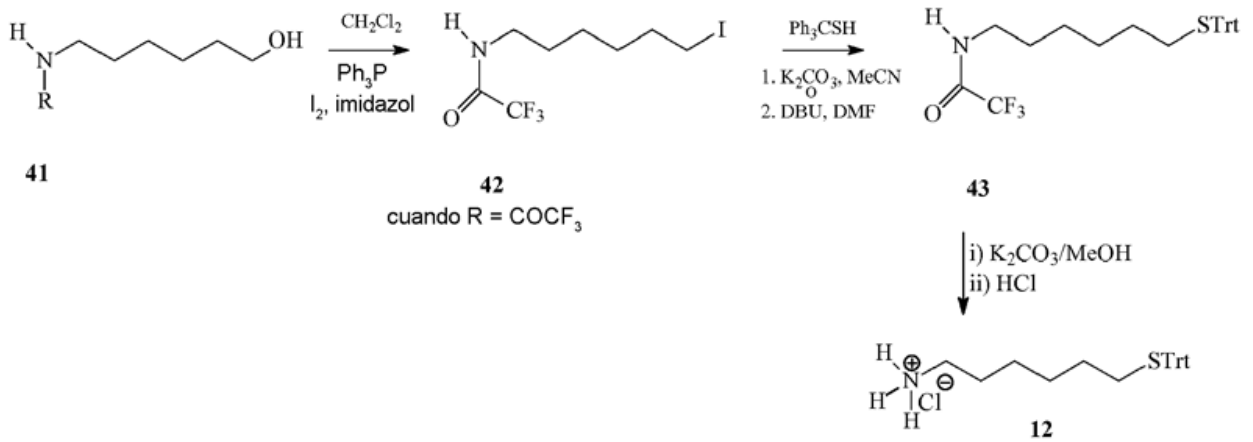
15 Esquema 9: Acoplamiento de grupo de unión con resto de treprostínil



20 Método general IV-Síntesis de cadena lateral de amina

25 El esquema 10 demuestra una nueva ruta de síntesis para sintetizar la cadena lateral de amina 12. Se hizo reaccionar el compuesto de aminoalcohol protegido 41 con yodo en presencia de trifetilfosfina e imidazol para proporcionar el compuesto 42. Se hizo reaccionar el compuesto de yodo 42 con trifenilmetanotiol en presencia de la base carbonato de potasio o DBU para proporcionar el compuesto 43. La desprotección de la trifluoroacetamida 43 usando carbonato de potasio proporcionó la cadena lateral de amina como una base libre que se convirtió en sal de ácido clorhídrico usando ácido clorhídrico 12.

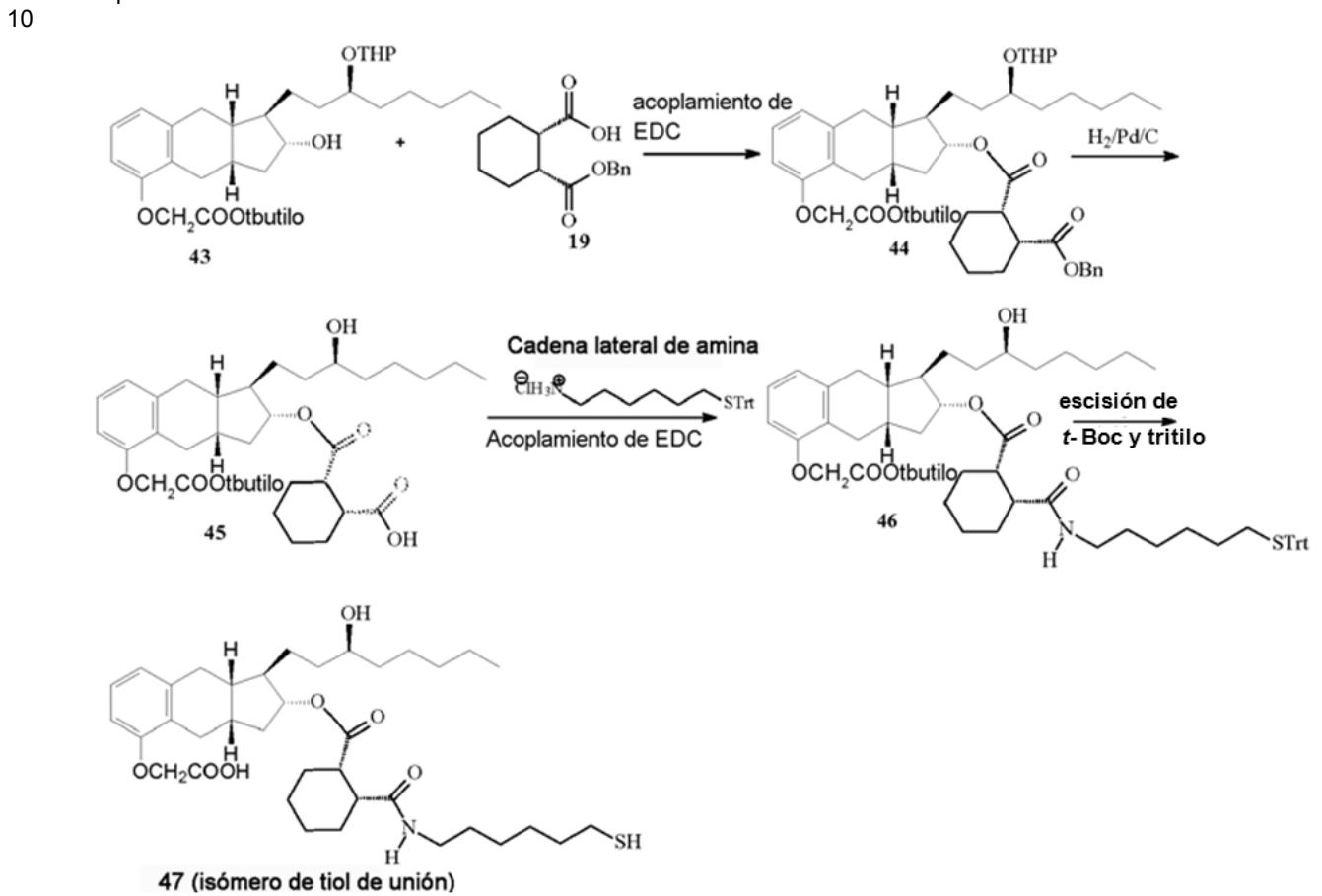
30 Esquema 10: Cadena lateral de amina usando aminoalcohol protegido con trifluoroacetamida



Método general V-Síntesis de isómero de tiol de unión

- 5 El esquema 11 representa la síntesis de isómero de tiol de unión 47 como marcador analítico para comprobar la pureza del isómero deseado de tiol de unión 5. Se usó una comparación de HPLC de ambos isómeros para determinar la pureza de tiol de unión deseado 5 y cualquier presencia de isómero no deseado 47.

Esquema 11: Síntesis de isómero de tiol de unión

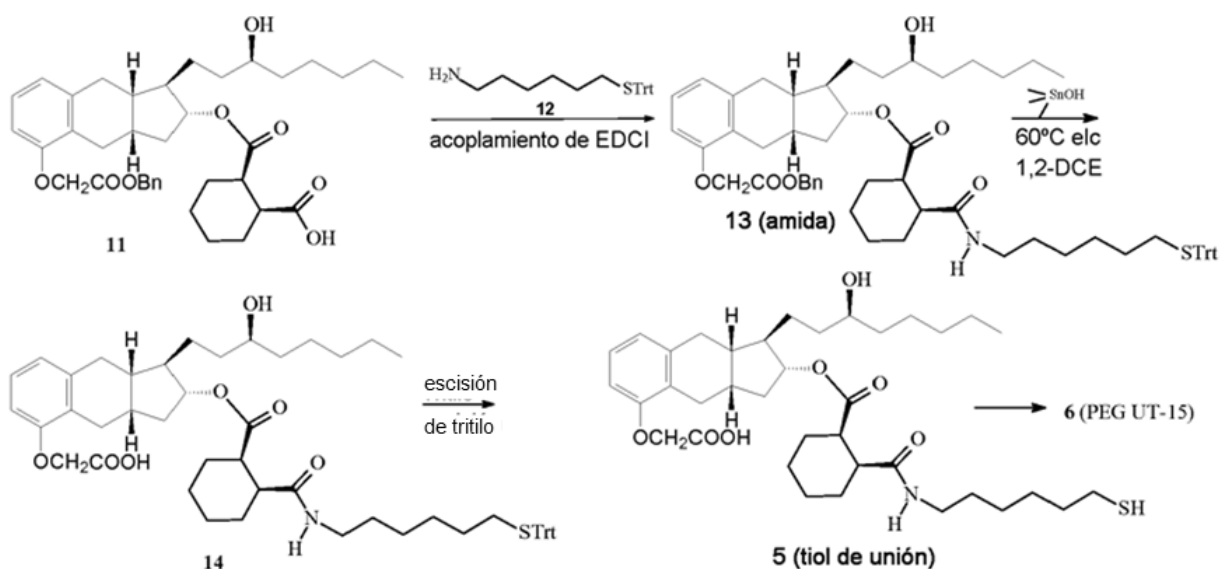
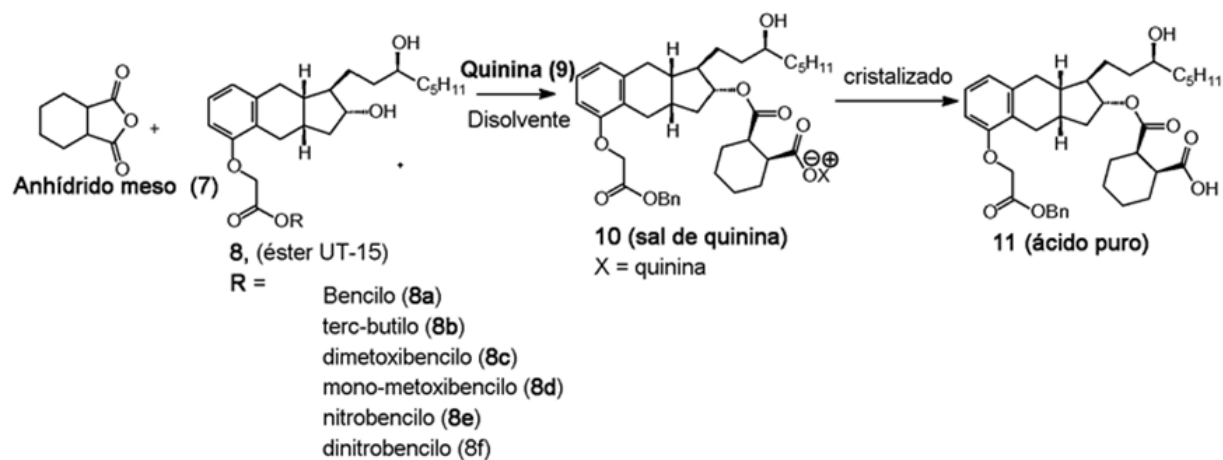


La presente invención, descrita así en general, se entenderá más fácilmente mediante referencia a los siguientes ejemplos, que se proporcionan a modo de ilustración y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1. Síntesis estereoespecífica/enantioselectiva de derivados de treprostina pegilados a partir de anhídridos

meso

5 Etapa A: Acoplamiento de éster bencilico de treprostnil con anhídrido *meso* (7→11)

A una suspensión de anhídrido *cis*-1,2-ciclohexanodicarboxílico (anhídrido *meso*) (7) (13,0 g) y quinina (9, 36,48 g) en tolueno anhidro (370 ml) se le añadió lentamente éster bencilico de treprostnil (8a, 27,0 g) manteniendo la temperatura de la mezcla entre 5-10° C en argón. Se agitó la mezcla de reacción mecánicamente a temperatura ambiental durante la noche. Después de ~18 h, se trató la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1 N (150 ml). Se separó la fase orgánica y se lavó con salmuera (1 x 50 ml), se secó sobre sulfato de sodio (Na_2SO_4), se filtró y se concentró a vacío para dar producto intermedio de ácido (11). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 5-100 % de acetato de etilo (EtOAc) en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se redujeron a vacío para proporcionar ácido puro (11, 26,4 g). Se sometió el producto intermedio de ácido (5,4 g) a formación de sal de quinina (10) usando una cantidad estequiométrica de quinina y se cristalizó usando una mezcla de alcohol isopropílico y heptanos para obtener sal de quinina (10, 5,4 g). Se neutralizó una cantidad pequeña de la sal de quinina (10) así obtenida con ácido clorhídrico 1 N para dar una muestra analítica de producto intermedio de ácido con una pureza quiral elevada (11; pureza quiral del 99 % mediante HPLC). Se purificó opcionalmente el producto intermedio de ácido por medio de metodología de formación de sal y neutralización.

Etapa B: Acoplamiento de amina con ácido (11→13)

Se cargó un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de producto intermedio de ácido (11) (11,6 g) en diclorometano (120 ml). A esta disolución se le añadieron diisopropiletil amina (9,4 g) y cadena lateral de amina (12, 7,90 g) a temperatura ambiente seguido por EDCI (4,2 g)

y HOBt (2,98 g). Se agitó la mezcla de reacción en condiciones ambientales hasta la finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante CCF. Después de aproximadamente 1-2 h se extinguió la mezcla de reacción con agua (200 ml) y se agitó durante 5-10 min. En esta fase se extrajo la fase orgánica, se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para obtener producto intermedio de amida en bruto (13). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 5-25 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se redujeron a vacío para proporcionar amida pura (14,6 g).

Etapa C: Hidrólisis de éster bencílico (13→14)

Se cargó un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de producto intermedio de amida (13, 7,4 g) en 1,2-dicloroetano (80 ml). A esta disolución se le añadió hidróxido de timetilestaño (4,7 g) a temperatura ambiente y se calentó la mezcla de reacción hasta 55-60 °C. Se agitó la mezcla de reacción a 55-60 °C hasta la finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante CCF. Después de aproximadamente 4-5 h se extinguió la mezcla de reacción con agua (100 ml) y se agitó durante 5-10 min. En esta fase se extrajo la fase orgánica, se lavó con salmuera (50 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para obtener producto intermedio de ácido en bruto (14). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 5-100 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el producto de ácido deseado y se redujeron a vacío para proporcionar ácido puro (5,4 g).

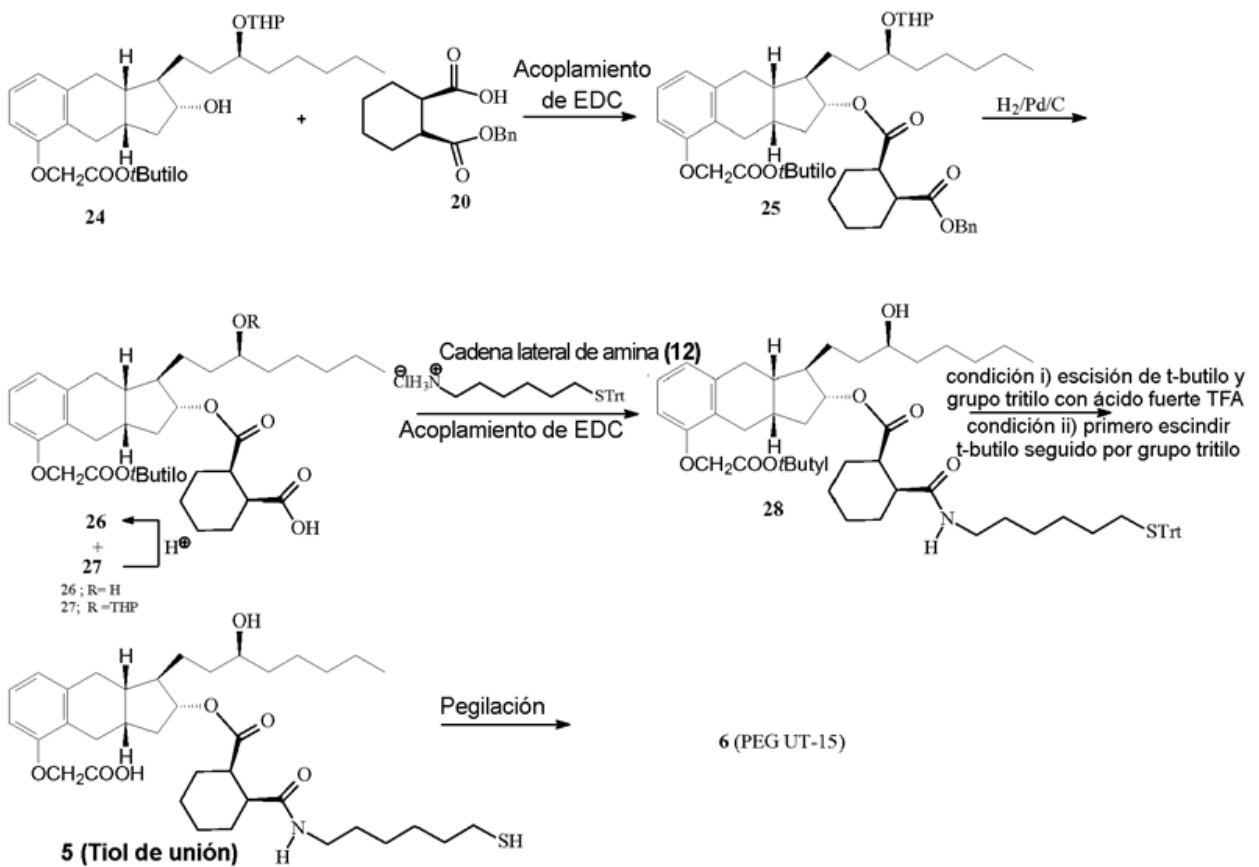
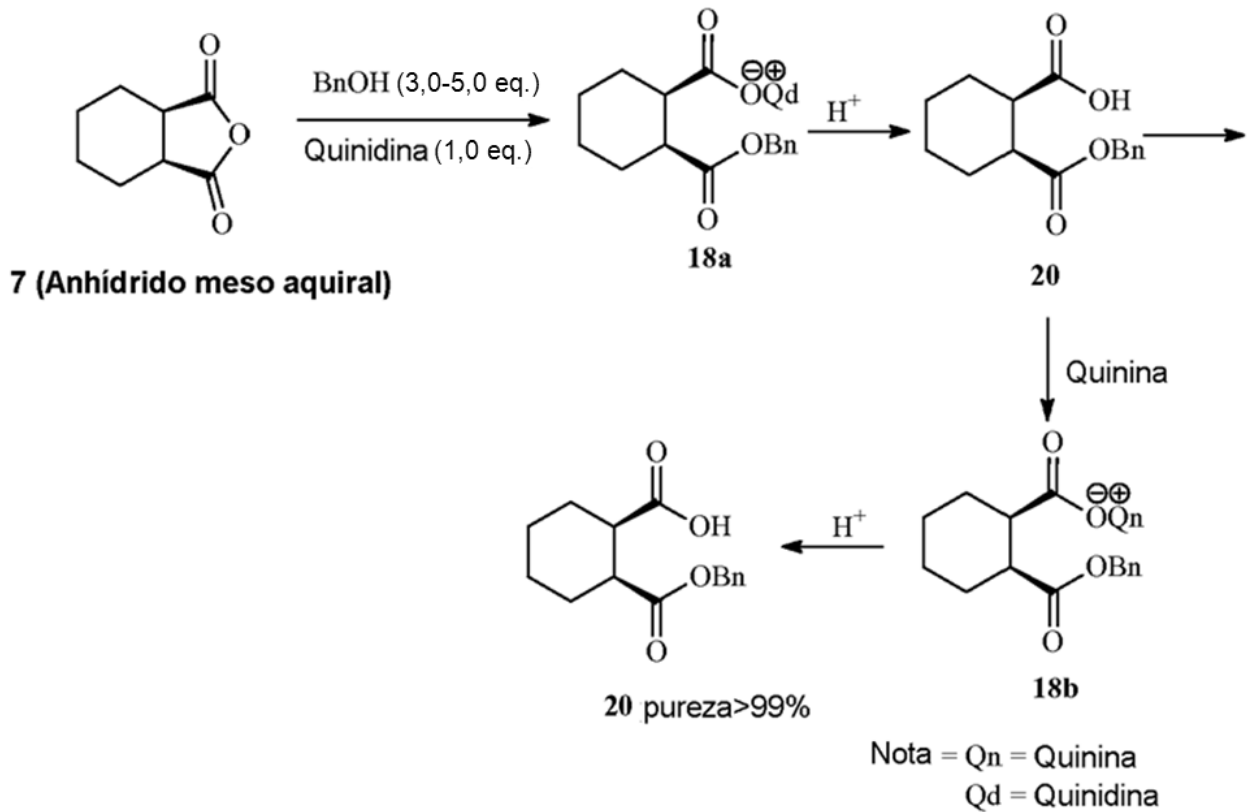
Etapa D: Escisión del grupo tritilo para obtener tiol de unión (14→5)

Se cargó un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de producto intermedio de ácido (14, 0,95 g) en hexafluoroisopropanol (HFIPA) (10 ml). A esta disolución se le añadió trietilsilano (TES) (1,0 ml) seguido por ácido trifluoroacético (TFA) (1,0 ml) a temperatura ambiente y se agitó la mezcla de reacción en condiciones ambientales hasta la finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante HPLC. Después de aproximadamente 15-30 min se extinguió la mezcla de reacción con agua (3x20 ml) y se agitó durante 5-10 min. En esta fase se extrajo la fase orgánica, se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para obtener tiol de unión en bruto (5, 1,2 g). Se purificó el producto en bruto (5) mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 20-100 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el producto de tiol de unión deseado (5) y se redujeron a vacío para proporcionar tiol de unión puro (5, 0,53 g, pureza quiral del 99 %, pureza química del 94,02 %).

Etapa E: Pegilación (5→6)

Se cargó un matraz de fondo redondo de 500 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con PEG de 20 KDa de 4 brazos (1,43 g), esto se disolvió en MeCN/H₂O 1:9 (50 ml) hasta disolución completa (aproximadamente 5 min). Se añadió tiol de unión con treprostinil 5 (0,208 g, 4,4 eq.) a la disolución de PEG en condiciones ambientales (disuelto en 120 ml de MeCN/H₂O 9:1). Se inició la reacción mediante la adición de tampón fosfato (pH 6,5, 15 ml, se comprobó el pH mediante papel de pH). Después de ~3 h, HPLC de la mezcla de reacción mostró finalización de la reacción. Se diluyó la mezcla de reacción con diclorometano (DCM) (130 ml) y ácido cítrico acuoso al 5 % (100 ml). Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (2 x 40 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con una mezcla de agua/NaCl saturado 1:1 (100 ml). En esta fase se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a vacío en condiciones ambientales hasta un volumen de 8-10 ml. Esto se enfrió hasta -20 °C y se añadió *tert*-butilmetil éter (MTBE) (150 ml) en 2-3 porciones a -20 °C y se agitó la suspensión a -20 °C durante 20 min, se filtró y se aclaró la torta con MTBE frío (30-40 ml). Se secó el sólido blanco a vacío a t.a. para obtener PEG-UT15 (6, 1,43 g, puro al 91 % mediante HPLC).

Ejemplo de referencia 2. Síntesis estereoespecífica/enantioselectiva de derivados de prostaciclina pegilados por medio de hemiésteres quirales



Etapa A: Preparación de hemiéster bencílico (7→20)

A una suspensión de anhídrido cis-1,2-ciclohexanodicarboxílico (anhídrido meso) (7) (39,52 g, 256,36 mmol, 1,0 eq.)

y quinidina (91,48 g, 281,98 mmol, 1,10 eq.) en tolueno anhidro (600 ml) se le añadió lentamente alcohol bencílico (83,17 g, 769,09 mmol, 3,0 eq.) manteniendo la temperatura de la mezcla entre 20-25 °C en argón (reacción ligeramente exotérmica). Se agitó la mezcla de reacción mecánicamente a temperatura ambiental durante la noche. Después de 24 h, se comprobó la mezcla de reacción mediante CCF (EtOAc/hexanos, 3:7) y no hubo anhídrido meso restante. Luego se trató la mezcla con *tert*-butilmetil éter (MTBE) (100 ml) y luego se acidificó con ácido clorhídrico 3 M (150 ml). Se separó la fase orgánica y se lavó con ácido clorhídrico 3 M (1 x 50 ml), agua (2 x 100 ml), salmuera (1 x 40 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío para dar hemiéster bencílico (20) y alcohol bencílico en exceso como líquido viscoso (115,18 g) (pureza quiral, 91,32 % mediante HPLC quiral). Se disolvió este hemiéster en bruto (115,18 g calculado como 60,52 g de 20 deseado disponible basándose en pureza química del 90 %, 230,74 mmol, 1,0 eq.) en acetona (550 ml) y luego se añadió quinina (74,86 g, 230,75 mmol, 1,0 eq.) en argón a temperatura ambiental. Se calentó suavemente la disolución transparente marrón claro a reflujo y durante este tiempo se formó sal de quinina sólida de hemiéster bencílico (18b). Se calentó la mezcla a reflujo durante 1 h para disolver la sal. Dado que la sal era soluble, se añadió más acetona hasta que se obtuvo una disolución transparente. El volumen total de acetona fue 850 ml. A esta solución transparente se le añadió hexano (1700 ml, dos veces el volumen de acetona usado) lentamente a 56 °C con agitación y luego se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiental y se agitó durante la noche. Después de 18 h, se recogió la sal de quinina (18b) en un embudo de Buchner y se lavó el sólido con hexano (2 x 100 ml), se transfirió el sólido en una bandeja de vidrio para secar al aire. El peso de la sal de quinina secada (18b) fue de 116,25 g (86,0 %) (pureza quiral, 99,76 % mediante HPLC quiral).

En una condición de reacción similar, se prepararon dos lotes más de sales de quinina de hemiéster bencílico (18b) con una pureza quiral del 99,5 % y se combinaron estos tres lotes de sales de quinina de hemiéster bencílico (18b) (total 374,90 g) y se transfirieron a un matraz de tres bocas de 5 l con agitador mecánico. A la sal de quinina se le añadió agua (1000 ml) y *tert*-butil metil éter (MTBE) (2000 ml) y a la suspensión se le añadió lentamente ácido clorhídrico 1 M (1000 ml) con agitación. Se agitó la mezcla a temperatura ambiental durante 1 h. Se separó la fase orgánica y se lavó con ácido clorhídrico 1,0 M (2 x 500 ml), agua (2 x 500 ml), salmuera (1 x 100 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío para dar líquido translúcido viscoso de hemiéster bencílico (20) (166,4 g, pureza quiral del 99,2 % mediante HPLC). Se sintetizó el hemiéster bencílico (19) siguiendo un procedimiento experimental similar.

Etapa B: Acoplamiento de hemiéster con éster t-Boc de treprostínil (20→25)

Se cargó un matraz de fondo redondo, de dos bocas, de 50 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de hemiéster bencílico quiral (20, 0,182 g) en diclorometano (10 ml) en argón. A esta disolución transparente se le añadieron EDCI (0,480 g) y DMAP (0,305 g) con agitación. Se continuó la agitación durante 10-15 min. A esta mezcla se le añadió éster t-Boc de treprostínil (24, 0,350 g) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiental durante aproximadamente 5-6 h. Se lavó la mezcla de reacción con agua (10 ml), se extrajo la fase orgánica, se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a vacío para obtener el producto acoplado en bruto (25). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna usando gel de sílice de 230-400 de malla y se eluyó con un gradiente de disolvente de acetato de etilo en hexanos (0-10 %). Se evaporaron las fracciones que contenían el compuesto deseado a vacío para proporcionar (25) puro como un líquido viscoso, incoloro (0,400 g) que se guardó para la etapa posterior.

Etapa C: Hidrogenólisis de éster bencílico (25→26)

Se cargó un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de producto de éster bencílico acoplado (2,3 g) en metanol (40 ml). A esta disolución, se le añadió Pd/C (0,500 g, húmedo al 50 %) mientras se agitaba a temperatura ambiente. Se evacuó la mezcla de reacción y se presurizó con gas hidrógeno usando un balón. Se hidrogenó la mezcla de reacción a presión de balón durante la noche (~ 16 h) a temperatura ambiental. Después de 16 h se monitorizó la reacción mediante CCF. En esta fase se filtró la mezcla de reacción a través de una almohadilla de Celite (~4 g). Se lavó la almohadilla de Celite con metanol (~50 ml). Se evaporaron los filtrados combinados a vacío para obtener producto de ácido en bruto (26) y se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna usando gel de sílice de 250-400 de malla. Se usó un gradiente de disolvente de acetato de etilo en hexanos (5-100 %) para eluir el producto de la columna. Se evaporaron las fracciones que contenían el producto deseado a vacío para proporcionar ácido puro (26, 1,63 g).

Etapa D: Acoplamiento de amina con ácido (26→28)

Se cargó un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de producto intermedio de ácido (26, 0,750 g) en diclorometano (10 ml). A esta disolución se le añadieron diisopropiletilamina (0,566 g) y cadena lateral de amina (12, 0,539 g) a temperatura ambiente seguido por EDCI (0,288 g) y HOBt (0,202 g). Se agitó la mezcla de reacción en condiciones ambientales hasta la finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante CCF. Después de aproximadamente 1-2 h se extinguió la mezcla de reacción con agua (20 ml) y se agitó durante 5-10 min. En esta fase se extrajo la fase orgánica, se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para obtener producto intermedio de amida en bruto (28). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando

el 5-25 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se redujeron a vacío para proporcionar amida pura (28, 0,78 g).

Etapa E: Escisión de t-Boc y grupos tritilo (28→5)

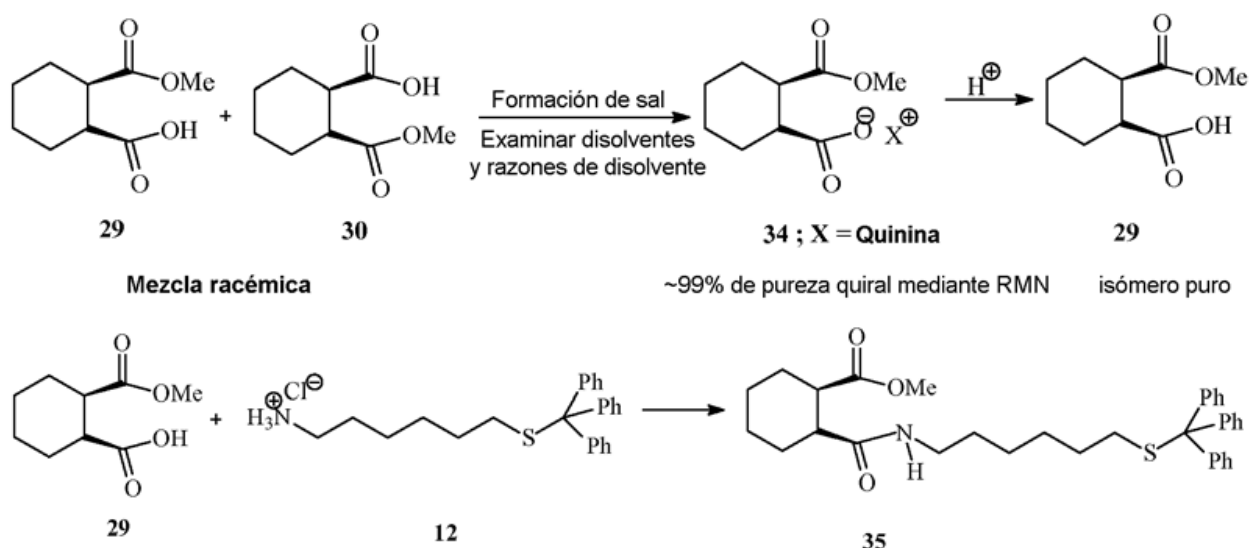
5 Se cargó un matraz de fondo redondo de 50 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de producto intermedio 28 (0,075 g) en hexafluoroisopropanol (HFIPA) (2,5 ml). A esta disolución se le añadió trietilsilano (TES) (0,15 ml) seguido por ácido trifluoroacético (TFA) (0,15 ml) a temperatura ambiente y se agitó la mezcla de reacción en condiciones ambientales hasta la finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante HPLC. Después de aproximadamente 6-7 h se extinguió la mezcla de reacción con agua (3x20 ml) y se agitó durante 5-10 min. En esta fase se extrajo la fase orgánica, se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a vacío para obtener tiol de unión en bruto (5). Se purificó el producto en bruto (5) mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 20-100 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el producto de tiol de unión deseado (5) y se redujeron a vacío para proporcionar tiol de unión puro (5, 0,030 g, 97 % de pureza quiral).

El otro isómero de tiol de unión (47) puede sintetizarse partiendo del otro isómero de hemiéster bencílico (19), usando el procedimiento experimental descrito anteriormente.

20 Etapa F: Pegilación (5→6)

Se cargó un matraz de fondo redondo de 500 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con PEG de 20 kDa de 4 brazos (1,43 g), esto se disolvió en MeCN/ H_2O 1:9 (50 ml) hasta disolución completa (aproximadamente 5 min). Se añadió tiol de unión con treprostinil 5 (0,208 g, 4,4 eq.) a la disolución de PEG en condiciones ambientales (disuelto en 120 ml de MeCN/ H_2O 9:1). Se inició la reacción mediante la adición de tampón fosfato (pH 6,5, 15 ml, se comprobó el pH mediante papel de pH). Después de ~3 h, la HPLC de la mezcla de reacción mostró finalización de la reacción. Se diluyó la mezcla de reacción con DCM (130 ml) y ácido cítrico acuoso al 5 % (100 ml). Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (2 x 40 ml). Se lavaron las fracciones orgánicas combinadas con una mezcla de agua/ NaCl saturado 1:1 (100 ml). En esta fase se combinaron las fases orgánicas, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron a vacío en condiciones ambientales hasta un volumen de 8-10 ml. Esto se enfrió hasta $-20\text{ }^\circ\text{C}$ y se añadió MTBE (150 ml) en 2-3 porciones a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ y se agitó la suspensión a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ durante 20 min, se filtró y se aclaró la torta con MTBE frío (30-40 ml). Se secó el sólido blanco a vacío a t.a. para obtener PEG-UT15 (6, 1,43 g, 91 % puro mediante HPLC).

35 Ejemplo de referencia 3. Síntesis estereoespecífica/enantioselectiva de derivados de prostaciclina pegilados por medio de cristalización de sales diastereoméricas de hemiésteres



40 Etapa A: Síntesis de hemiéster metílico racémico (7→29, 30)

Se sometió a reflujo anhídrido meso (7) en MeOH (10 vol. p/v) para obtener una mezcla racémica de hemiésteres (29 y 20). Se trató la mezcla racémica de 29 y 30 (12,08 g) con quinina (21,28 g) en acetona (225 ml) a $55-60\text{ }^\circ\text{C}$ y se agitó durante 30 min. A esta disolución transparente se le añadió hexano (650 ml) y se enfrió hasta t.a. mientras se agitaba durante 3 h. En esta fase, precipitó un sólido blanco de la disolución. Esto se filtró y se secó para obtener 22 g de la sal de quinina (34). Se caracterizó la sal de quinina mediante RMN.

Se tomó 1 g de sal de quinina (34) en acetona (20 ml) y se calentó a 55-60 °C para obtener una disolución transparente y esto se enfrió hasta t.a. mientras se agitaba durante la noche. Se filtró el sólido blando así obtenido y se secó para obtener 490 mg de sal de quinina pura del isómero de ácido 29. Se neutralizó la sal con HCl 1 N para obtener ácido libre (29) con pureza quiral elevada (99 %).

5

Etapa B: Síntesis de hemiéster metílico racémico (29→35)

Se llevó a cabo acoplamiento con amina usando el procedimiento experimental descrito en los ejemplos 1 y 2. Alternativamente, puede realizarse el acoplamiento activando el ácido con cloruro de tionilo en lugar de con EDCI.

10

Ejemplo de referencia 4. Síntesis de cadena lateral de amina

Síntesis de yoduro de trifluoroacetaminohexilo (42, R = COCF₃)

15

A una disolución de trifenilfosfonina (1,35 g, 0,0052 mol, 2,2 eq.) en diclorometano (15 ml) se le añadió yodo (1,31 g, 0,0052 mol, 2,2 eq.) bajo argón a temperatura ambiental. Se agitó la mezcla durante 10 min y luego imidazol (0,35 g, 0,0052 mol, 2,2 eq.) y se agitó durante 10 min seguido por una disolución de trifluoroacetaminohexanol (41, R = COCF₃) (500 mg, 0,0023 mol, 1,0 eq.) en diclorometano (15 ml). Se sometió cuidadosamente a reflujo la mezcla de reacción durante 2 h. Se monitorizó la mezcla de reacción mediante CCF (EtOAc/hexano, 1:4). Después de la finalización de la reacción, se trató la mezcla con hexano (30 ml). Se hizo pasar la mezcla a través de una almohadilla de gel de sílice usando una mezcla de EtOAc/hexano (1:4) para dar compuesto de yodo puro (42, R = COCF₃) (710 mg).

20

Síntesis de trifluoroacetaminohexil tritil tioéter (43): Método A

25

A una disolución de yoduro de trifluoroacetaminohexilo (42, R = COCF₃) (285 mg, 0,0088 mol, 1,0 eq.) en acetonitrilo (25 ml) se le añadieron carbonato de potasio en polvo (304 mg, 0,0220 mol, 2,5 eq.) y tritiltiol (243 mg, 0,0088 mol, 1,0 eq.) bajo argón a temperatura ambiental. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiental durante la noche y se monitorizó mediante CCF (EtOAc/hexano, 1:9). Después de 20 h, se trató la mezcla de reacción con hexano (15 ml) y se hizo pasar a través de una almohadilla de gel de sílice y se concentró el filtrado a vacío para dar trifluoroacetaminohexil tritil tioéter (43) (425 mg).

30

Síntesis de trifluoroacetaminohexil tritil tioéter (43): Método B

35

A una disolución de yoduro de trifluoroacetaminohexilo (42, R = COCF₃) (400 mg, 0,0124 mol, 1,0 eq.) en DMF (12 ml) se le añadieron DBU (207 mg, 0,0136 mol, 1,1 eq.) y tritiltiol (342 mg, 0,0124 mol, 1,0 eq.) bajo argón a temperatura ambiental. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiental durante la noche y se monitorizó mediante CCF (EtOAc/hexano, 1:9). Después de 20 h, se trató la mezcla de reacción con acetato de etilo y se lavó con disolución de cloruro de amonio saturada (2 x), salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío para dar trifluoroacetaminohexil tritil tioéter (43) (560 mg).

40

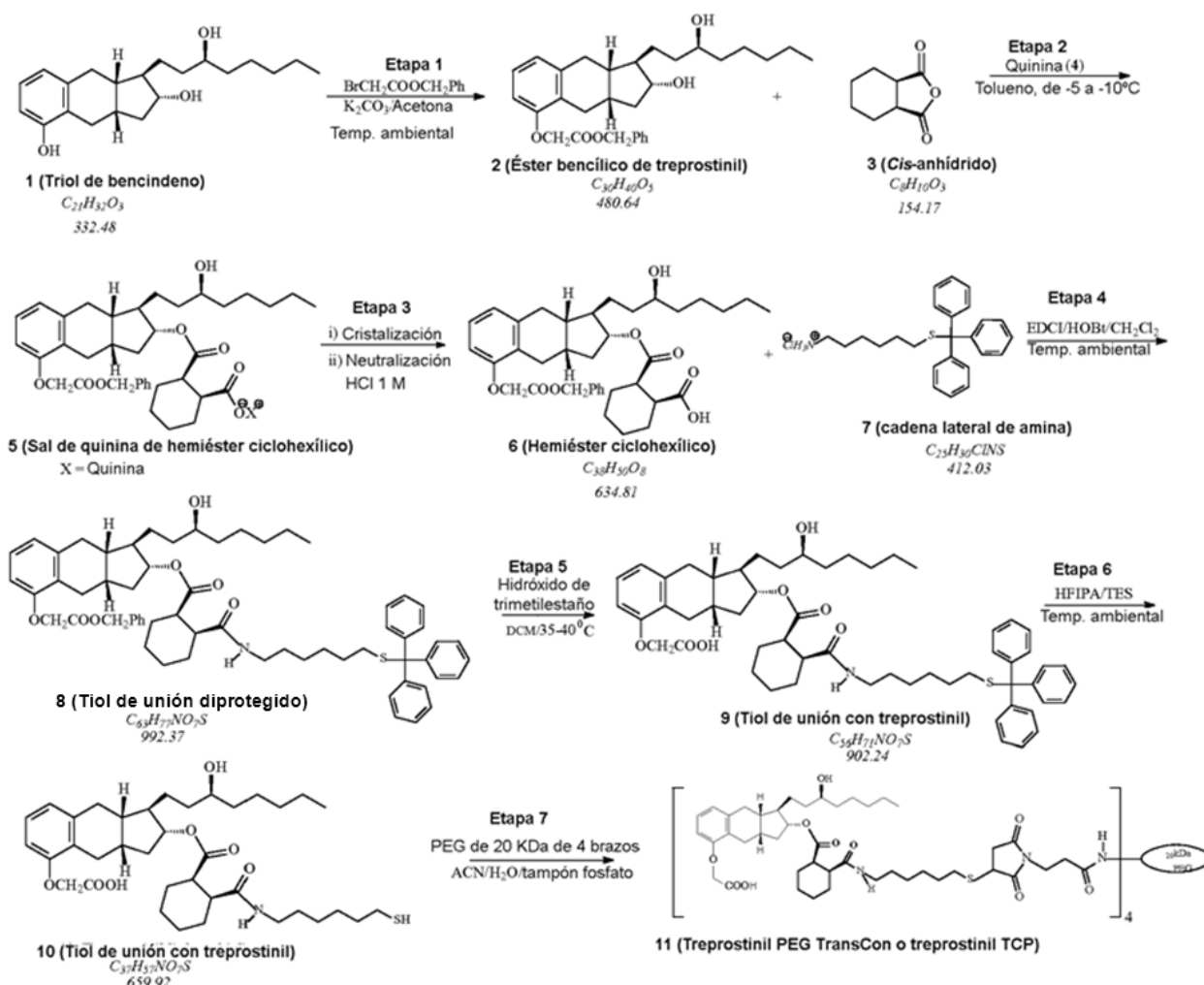
Síntesis de sal de clorhidrato de aminohexil tritil tioéter (12)

45

A una disolución de trifluoroacetaminohexil tritil tioéter (43) (115 mg, 0,00024 mol, 1,0 eq.) en metanol/agua (9:1) (15 ml) se le añadió carbonato de potasio (0,051 mg, 0,00036 mol, 1,5 eq.) a temperatura ambiental. Se agitó la mezcla de reacción a 40 °C. Se monitorizó la reacción mediante CCF (EtOAc/hexano, 1:4). Después de la finalización de la reacción, se evaporó el metanol de la mezcla a vacío y se trató el residuo con agua y acetato de etilo. Se separó la fase orgánica y se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró a vacío para dar aminohexil tritil tioéter (12) (80 mg). Se trató el compuesto 12 con una disolución de cloruro de hidrógeno en dioxano seguido por filtración para obtener sal de clorhidrato de aminohexil tritil tioéter (12) como un sólido (90 mg).

50

El esquema 12 resume una realización del procedimiento de preparación de treprostnil pegilado.



Parte experimental:

5 Etapa-1: Síntesis de éster bencilico de treprostnil (2) a partir de triol (1):

Se cargó un reactor con camisa de 50 l equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura con una disolución de triol de bencideno (1) (1,0 kg) en acetona (12,0 l). A esta disolución se le añadió carbonato de potasio en polvo (935,0 g) seguido por bromoacetato de bencilo (828,0 g) a temperatura ambiental. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiental hasta finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la mezcla de reacción mediante CCF (MeOH/CH₂Cl₂, 1:9) y se encontró que la reacción se completaba después de 32 h. Se filtró la mezcla de reacción y se lavó la torta de filtro con acetona (6,0 l). Se concentró el filtrado a vacío para obtener éster bencilico de treprostnil (2) como un líquido viscoso de color amarillo claro. Se agitó el producto en bruto en una mezcla de hexanos (5,0 l) y acetato de etilo (0,15 l) para obtener un sólido granular. Se filtró este sólido y se secó a vacío para obtener éster bencilico sólido blanquecino que fluía libremente (1,36 kg, 94,5 %).

Etapas 2 y 3: Acoplamiento de éster bencilico de treprostnil (2) con cis-anhídrido (3) y cristalización de sal de quinina (5):

20 Se cargó un reactor con camisa de 50 l equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura con éster bencilico (2) (300,0 g) en tolueno (3,95 l). A esta disolución, se le añadió quinina (4) (286,0 g) y se enfrió esta mezcla de reacción hasta de -5 a -10 °C mientras se agitaba. Luego se añadió anhídrido *cis*-1,2-ciclohexanodicarboxílico (3) (92,31 g) mientras se mantenía la temperatura de la mezcla de reacción entre de -5 °C a -10 °C bajo argón. Se agitó la mezcla de reacción mecánicamente a de -5 °C a -10 °C durante 3-5 h. Se monitorizó el avance de la reacción mediante UPLC a intervalos regulares de 1 h. Después de ~4-5 h, se encontró que la reacción se había completado y se trató la mezcla de reacción con ácido clorhídrico 1 N (2,18 l) mientras se mantenía la temperatura entre de 0 °C a 10 °C. Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (3,0 l). Se lavaron las fases orgánicas combinadas dos veces con agua (2 x 5,0 l), se separaron y se concentraron a vacío para proporcionar producto intermedio de ácido en bruto (681,0 g). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 5-100 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el

compuesto deseado y se redujeron a vacío para proporcionar ácido puro (181,0 g). Se sometió el producto intermedio de ácido (181,0 g) a formación de sal de quinina (5) usando una cantidad estequiométrica de quinina y se cristalizó usando una mezcla de acetona y hexanos para obtener sal de quinina (5) (177,0 g). Se neutralizó la sal de quinina (5) así obtenida con ácido clorhídrico 1 M (0,63 l) para dar hemiéster ciclohexílico quiralmente puro (6) (117,45 g; 30 %) con pureza quiral (>99 %).

Etapa 4: Acoplamiento de hemiéster ciclohexílico (6) con cadena lateral de amina (7):

Se cargó un reactor con camisa de 50 l equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura con una disolución de hemiéster ciclohexílico (6) (115,0 g) en diclorometano (2,5 l). A esta disolución se le añadió cadena lateral de amina (7) (77,77 g) seguido por HOBt (29,40 g) a temperatura ambiental. A esta mezcla de reacción, se le añadieron EDCI (42,25 g) y diisopropiletilamina (58,93 g) bajo argón. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiental hasta finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante CCF. Después de aproximadamente 3-4 h se extinguió la mezcla de reacción con agua (1,5 l) y se agitó durante 5-10 minutos. En esta fase, se extrajo la fase orgánica y se extrajo de nuevo la fase acuosa con diclorometano (2,0 l). Se lavaron las fases orgánicas combinadas dos veces con agua (1 x 2,0 l y 1 x 1,5 l), se separaron y se concentraron a vacío a 40 ± 5 °C para obtener producto intermedio de amida en bruto (8) (204,0 g). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 0-45 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se concentraron a vacío para proporcionar tior de unión diprotectado puro (8) (163,11 g; 90,7 %).

Etapa 5: Hidrólisis de tior de unión diprotectado (8) con hidróxido de trimetilestaño:

Se cargó un reactor con camisa de 50 l equipado con un agitador y una sonda de temperatura con una disolución de tior de unión diprotectado (8) (161,0 g) en diclorometano (2,0 l). A esta disolución se le añadió hidróxido de trimetilestaño (123,28 g) a temperatura ambiental y se calentó la mezcla de reacción hasta 35-40 °C. Se agitó la mezcla de reacción a 35-40 °C hasta finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante CCF. Después de 8-9 h, se enfrió la mezcla de reacción hasta 15-20 °C y se extinguió con agua (2,0 l) y se agitó durante 5-10 minutos. En esta fase, se extrajo la fase orgánica y se lavó con agua (3 x 3,0 l) y se concentró a vacío para obtener producto intermedio de ácido en bruto (9) (292,0 g). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 5-100 % de EtOAc en hexanos y más tarde con el 5-20 % de metanol en diclorometano. Se recogieron las fracciones que contenían el producto deseado y se concentraron a vacío a 40 ± 5 °C para proporcionar tior de unión protegido con tritilo puro (9) (140,0 g, 95,6 %).

Etapa 6: Escisión de grupo tritilo de (9) para obtener tior de unión con treprostínil (10)

Se cargó un reactor con camisa de 50 l equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura con una disolución de tior de unión protegido con tritilo (9) (138,0 g) en hexafluoroisopropanol (HFIPA) (1,5 l). A esta disolución se le añadió trietilsilano (TES) (0,15 l) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiental hasta finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante UPLC. Después de 3-4 h se extinguió la mezcla de reacción con agua (1 x 2,0 l) y se añadió diclorometano (2,0 l) mientras se agitaba. En esta fase, se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con diclorometano (4,0 l). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua (2 x 2,0 l) seguido por salmuera (2,0 l), y luego se concentraron a vacío a 30 ± 5 °C para obtener tior de unión en bruto (10) (303,0 g). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 20-100 % de EtOAc en hexanos y más tarde con el 5-20 % de metanol en diclorometano. Se recogieron las fracciones que contenían el producto de tior de unión deseado (10) y se concentraron a vacío para proporcionar tior de unión con treprostínil puro (10) (81,8 g, 81,1 %).

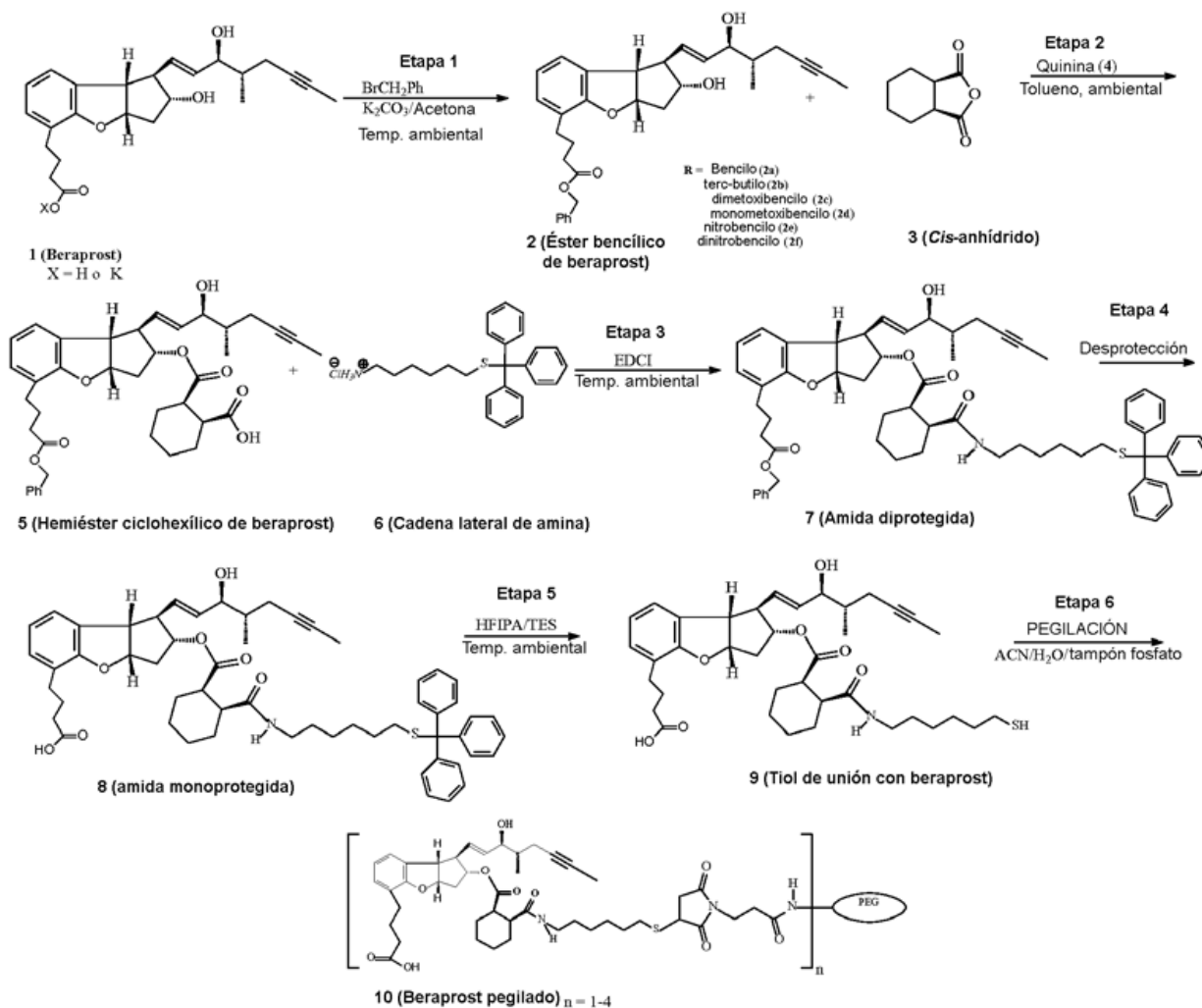
Etapa 7: Pegilación de tior de unión con treprostínil (10) con PEG de 20 KDa de 4 brazos

Se cargó un reactor con camisa de 100 l equipado con un agitador mecánico y una sonda de temperatura con PEG de 20 KDa de 4 brazos (270,0 g) seguido por mezcla de MeCN:H₂O (1:9) (7,1 l). Se agitó esta mezcla a temperatura ambiental hasta disolución completa. Se disolvió tior de unión con treprostínil (10) (41,0 g) en una mezcla de MeCN:H₂O (9:1) (17,8 l) y se añadió a la disolución preparada anteriormente de PEG de 20 KDa de 4 brazos a temperatura ambiental. En esta fase se añadió tampón fosfato (2,8 l) a la mezcla de reacción (pH 7,5) y se permitió agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiental hasta finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante UPLC tomando una alícuota de la mezcla de reacción después de cada 1 h. Después de ~4 h, la UPLC de la mezcla de reacción mostró finalización de la reacción. Se extinguió la mezcla de reacción mediante la adición de disolución de ácido cítrico al 5 % (12,0 l), seguido por adición de salmuera al 5 % (2,7 l) y diclorometano (21,0 l). Se permitió agitar esta mezcla durante 15-20 minutos y luego se separó la fase orgánica. Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (2 x 5,0 l). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con una mezcla de agua y salmuera (1:1) (6,0 l), se secaron sobre Na₂SO₄ (3,7 kg) y se concentraron a vacío a 25 ± 3 °C hasta un volumen total de 1,8 l en un matraz de evaporación rotatoria. Se filtró esta disolución concentrada a través de un paño de filtro de polipropileno a vacío y se aclaró el matraz de evaporación rotatoria con una mezcla de diclorometano:acetoneitrilo (1:1) (2,4 l) y se filtró a través de un paño de filtro de polipropileno. Se transfirieron los filtrados combinados a un reactor limpio y se enfrió esta disolución hasta -25 °C. A esta disolución, se le añadió MTBE enfriado previamente

(21,5 l) y se agitó esta mezcla a de -10 a -15 °C durante 20-30 min. Se filtró el sólido blanco así obtenido a través de un filtro Aurora usando un paño de filtro de polipropileno y se lavó la torta de filtro con MTBE frío (11,0 l). Se secó el sólido blanco con aire comprimido seco (CDA) a temperatura ambiental para obtener treprostnil PEG TransCon (11) (TCP-UT15) (290,0 g, 73,7 %).

5

El esquema 13 ilustra una realización de un procedimiento para sintetizar beraprost pegilado.



10 Etapa 1→ 2 (formación de éster bencílico de beraprost): n.º de lote D-1117-194

A una disolución de beraprost (forma de sal o ácido libre) (200 mg) en acetona (20 ml) se le añadieron dimetilaminopiridina (DMAP) (2 mg) y bromuro de bencilo (117 mg) a temperatura ambiente. Esto se agitó a temperatura ambiente hasta dar una disolución transparente. A esta disolución se le añadió yoduro de tetrabutilamonio (50 mg) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura de reflujo durante 2 h. Después de 2 h, se comprobó la mezcla de reacción mediante CCF (MeOH/CH₂Cl₂, 1:9) y se encontró que la reacción se había completado. Se evaporó la mezcla de reacción a vacío para obtener aceite en bruto. Esto se trató con ácido clorhídrico 1 N (~5 ml) y EtOAc (10 ml) y se agitó durante 10 minutos. Se separó la fase orgánica y se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para dar producto intermedio de éster en bruto (2). Se purificó el producto en bruto (2) mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando EtOAc seguido por MeOH al 10 % en CH₂Cl₂ para eluir el producto. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se redujeron a vacío para proporcionar éster bencílico de beraprost puro (2) (222 mg). ¹H-RMN mostró la formación del compuesto deseado.

25 Etapa 2→ 3 (acoplamiento de éster bencílico de beraprost con anhídrido meso): n.º de lote D-1124-029

A una disolución del compuesto 2 (220 mg) en tolueno (7 ml) se le añadió quinina (191 mg) seguido por anhídrido *cis*-1,2-ciclohexanodicarboxílico (anhídrido *meso*) (62 mg). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiental durante la noche. Después de ~18 h, se cargó la mezcla de reacción en bruto en una almohadilla de gel de sílice y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando el 0-100 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se redujeron a vacío para proporcionar ácido puro (3) (110 mg). ¹H-RMN mostró la formación del compuesto deseado.

Etapa 3→ 4 (acoplamiento de amina con ácido): n.º de lote D-1117-201

Se cargó un matraz de fondo redondo de 25 ml equipado con un agitador magnético y barra agitadora con una disolución de producto intermedio de ácido (3) (86 mg) en diclorometano (7 ml). A esta disolución, se le añadieron cadena lateral de amina (6) (60 mg), EDCI (33 mg) y HOBt (23 mg) a temperatura ambiente, seguido por diisopropiletilamina (45 mg). Se agitó la mezcla de reacción en condiciones ambientales hasta finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante CCF. Después de aproximadamente 1-2 h, se extinguió la mezcla de reacción con agua (10 ml) y se agitó durante 5-10 min. En esta fase, se lavó la fase orgánica con salmuera (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para obtener producto intermedio de amida en bruto (4). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 5-40 % de EtOAc en hexanos. Se recogieron las fracciones que contenían el compuesto deseado y se redujeron a vacío para proporcionar amida pura (42 mg). ¹H-RMN mostró la formación del compuesto deseado.

Etapa 4→ 5 (hidrólisis de éster bencílico): n.º de lote D-1124-032

A una disolución de producto intermedio de amida (4) (40 mg) en 1,2-dicloroetano (5 ml), se le añadió hidróxido de trimetilestano (25 mg) a temperatura ambiente y se calentó la mezcla de reacción hasta 65-70 °C. Se agitó la mezcla de reacción a 65-70 °C hasta finalización de la reacción. Se monitorizó el avance de la reacción mediante CCF. Después de aproximadamente 11 h, la CCF de la mezcla de reacción mostró muy poco producto y en esta fase se añadió hidróxido de trimetilestano adicional (50 mg) y se agitó la mezcla de reacción a 65-70 °C durante otras 5 h. En esta fase, la CCF de la mezcla de reacción mostró aproximadamente el 40-50 % de producto junto con material de partida sin reaccionar. Se extinguió la mezcla de reacción con agua (10 ml) y se agitó durante 5-10 min. En esta fase, se extrajo la fase orgánica, se lavó con salmuera (5 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró a vacío para obtener producto intermedio de ácido en bruto (5). Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando el 0-100 % de EtOAc en hexanos seguido por el 10 % de MeOH en CH₂Cl₂ para eluir el producto. Se recogieron las fracciones que contenían el producto puro y se redujeron a vacío para proporcionar compuesto puro (20 mg).

Pueden usarse derivados de prostaciclina pegilados, tales como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, en una formulación farmacéutica para tratar varias afecciones mediante administración a un sujeto, tal como un ser humano que lo necesita. Por ejemplo, puede usarse treprostinil pegilado para tratar una afección, para la cual se sabe que el treprostinil es eficaz. De manera similar, puede usarse beraprost pegilado para tratar una afección, para la cual se sabe que el beraprost es eficaz. Las afecciones, para las que se sabe que el treprostinil es eficaz, incluyen pero no se limitan a hipertensión pulmonar (incluyendo hipertensión pulmonar idiopática y secundaria e hipertensión arterial pulmonar), vasculopatía periférica, claudicación intermitente grave, isquemia crítica de las extremidades, lesiones isquémicas, asma, fibrosis pulmonar, úlceras del pie neuropáticas diabéticas, neumopatía intersticial. Las afecciones, para las que se sabe que el beraprost es eficaz, incluyen, pero no se limitan a hipertensión pulmonar, vasculopatía.

Una formulación farmacéutica puede comprender un derivado de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El término "farmacéutico/a" cuando se usa en el presente documento como adjetivo significa sustancialmente no perjudicial para el mamífero receptor. Por "formulación farmacéutica" quiere decirse que el vehículo, diluyente, excipientes y principio(s) activo(s) deben ser compatibles con los demás componentes de la formulación, y no perjudiciales para el receptor de la misma.

Puede formularse un derivado de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, antes de la administración. La selección de la formulación debe decidirla el médico responsable teniendo en cuenta los mismos factores implicados en la determinación de la cantidad eficaz.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral de un derivado de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, incluyen disoluciones, emulsiones, suspensiones, jarabes y elixires, que pueden formularse antes de la administración.

Los principios activos totales en tales formulaciones comprenden desde el 0,1 % hasta el 99,9 % en peso de la formulación. Un derivado de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, puede formularse con uno o más principios activos adicionales o como único principio activo.

Pueden prepararse formulaciones farmacéuticas mediante procedimientos conocidos en la técnica usando componentes bien conocidos y fácilmente disponibles. Por ejemplo, un derivado de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, o bien solo o bien en combinación con otro(s) principio(s) activo(s), se formulan con excipientes, diluyentes o vehículos comunes, y se forman para dar comprimidos, cápsulas, suspensiones, disoluciones, inyectables, aerosoles, polvos y similares.

Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral comprenden disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas estériles, así como polvos estériles que se reconstituyen inmediatamente antes de su uso para dar disoluciones o suspensiones estériles. Los ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos estériles adecuados incluyen agua, solución salina fisiológica, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, poli(etilenglicol), y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva), y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Se mantiene una fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento tales como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula adecuado en el caso de dispersiones y suspensiones, y mediante el uso de tensioactivos.

Las formulaciones parenterales también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes de dispersión. La prevención de la acción de microorganismos está garantizada por la inclusión de agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenolsorbico, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares. Se esterilizan formulaciones inyectables, por ejemplo, mediante filtración a través de filtros de retención bacterianos, o mediante esterilización previa de los componentes de la mezcla antes de su mezclado, o bien en el momento de fabricación o bien justo antes de la administración (como en el ejemplo de un envase de jeringas de cámara doble).

Las formas de dosificación sólidas para administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En tales formas de dosificación sólidas, se mezcla un derivado de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, con al menos un vehículo farmacéutico inerte tal como citrato de sodio, o fosfato de dicalcio, y/o (a) cargas o extendedores tales como almidones, azúcares incluyendo lactosa y glucosa, manitol y ácido silícico, (b) agentes de unión tales como carboximetilcelulosa y otros derivados de celulosa, alginatos, gelatina, poli(vinilpirrolidina), sacarosa y goma arábiga, (c) humectantes tales como glicerol, (d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, bicarbonato de sodio, almidón de patata o tapioca, ácido alginico, silicatos y carbonato de sodio, (e) agentes hidratantes tales como glicerol; (f) agentes de retardo de la disolución tales como parafina, (g) agentes de aceleración de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, (h) agentes humectantes tales como alcohol cetílico y monoestearato de glicerina, (i) absorbentes tales como caolín y arcilla bentonita, y (j) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, poli(etilenglicoles) sólidos, laurilsulfato de sodio, y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación también puede contener agentes de tamponamiento.

Las formulaciones sólidas de un tipo similar también pueden comprender la carga en cápsulas de gelatina blanda o dura que usan excipientes tales como lactosa así como poli(etilenglicoles) de alto peso molecular y similares. Las formas de dosificación sólidas tales como comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos también pueden prepararse con recubrimientos o cubiertas tales como recubrimientos entéricos u otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Los recubrimientos pueden contener agentes opacificantes o agentes que liberan el/los principio(s) activo(s) en una parte particular del tubo digestivo, como por ejemplo, recubrimientos solubles en ácido para liberación del/de los principio(s) activo(s) en el estómago, o recubrimientos solubles en base para liberación del/de los principio(s) activo(s) en el tubo intestinal. El/los principio(s) activo(s) también puede(n) microencapsularse en un recubrimiento de liberación sostenida, siendo parte las microcápsulas de una píldora de formulación de cápsula.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral de un derivado de prostaciclina pegilada, tal como treprostinil pegilado y beraprost pegilado, incluyen disoluciones, emulsiones, suspensiones, jarabes y elixires, que pueden formularse a partir de la forma polimórfica particular antes de la administración. Además de los componentes activos, las formulaciones líquidas pueden incluir diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica tales como agua u otros disolventes farmacéuticos, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como etanol, isopropanol, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de nuez molida, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, poli(etilenglicoles), ésteres de ácido graso de sorbitol, y mezclas de los mismos. Además de los diluyentes inertes, las formulaciones orales líquidas también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, y agentes edulcorantes, aromatizantes y de perfume. La suspensión líquida, además del/de los principio(s) activo(s), puede contener agentes de suspensión tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, arcilla bentonita, agar-agar y tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las realizaciones, descritas de manera ilustrativa en el presente documento, pueden ponerse en práctica de manera

5 adecuada en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no específicamente divulgados en el presente documento. Por tanto, por ejemplo, los términos “que comprende”, “que incluye”, “que contiene”, etc. deben leerse de manera amplia y sin limitación. Adicionalmente, la frase “que consiste esencialmente en” se entenderá que incluye los elementos mencionados específicamente y los elementos adicionales que no afecten materialmente a las características básicas y novedosas de la tecnología reivindicada. La frase “que consiste en” excluye cualquier elemento no especificado.

10 Además, cuando se describen características o aspectos de la divulgación en cuanto a grupos de Markush, los expertos en la técnica reconocerán que la divulgación se describe también de ese modo en cuanto a cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo de Markush.

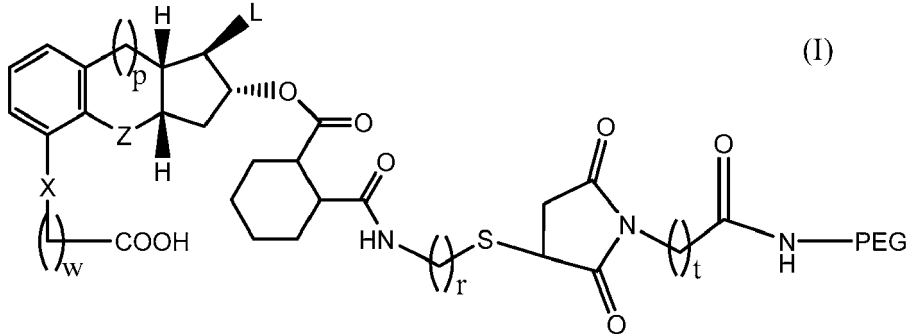
15 Tal como entenderá un experto en la técnica, para todos y cada uno de los propósitos, particularmente en cuanto a proporcionar una descripción escrita, todos los intervalos divulgados en el presente documento también abarcan todos y cada uno de los subintervalos posibles y combinaciones de subintervalos de los mismos. Cualquier intervalo enumerado puede reconocerse fácilmente como que describe y permite suficientemente que el mismo intervalo se descomponga en al menos mitades, tercios, cuartos, quintos, décimos, etc., iguales. Como ejemplo no limitativo, cada intervalo comentado en el presente documento puede descomponerse fácilmente en un tercio inferior, un tercio intermedio y un tercio superior, etc. Tal como también entenderá un experto en la técnica, todas las expresiones tales como “hasta”, “al menos”, “mayor que”, “menor que”, y similares, incluyen el número mencionado y se refieren a intervalos que pueden descomponerse posteriormente en subintervalos tal como se comentó anteriormente. Finalmente, tal como entenderá un experto en la técnica, un intervalo incluye cada miembro individual.

Otras realizaciones se exponen en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

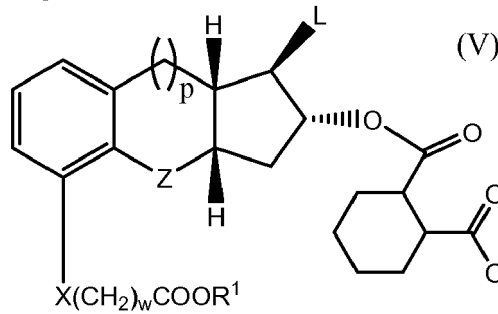
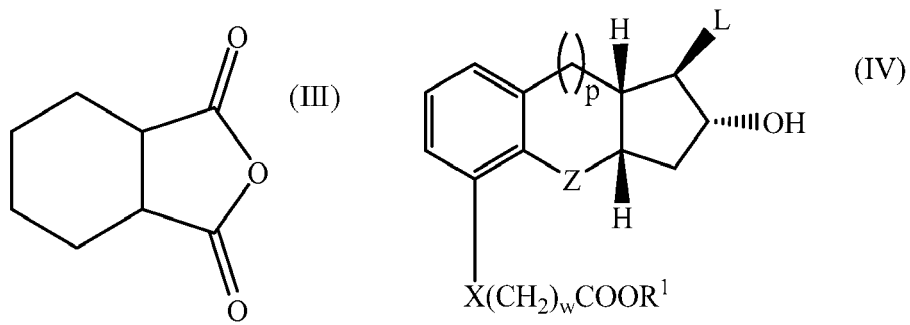
1. Procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

5



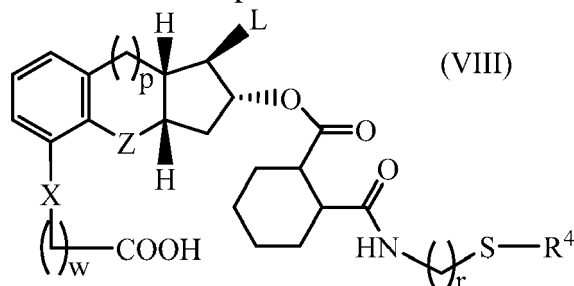
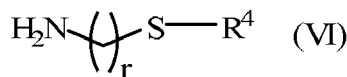
comprendiendo el procedimiento:

- 10 acoplar un anhídrido *meso* de fórmula III con un compuesto de éster de fórmula IV en presencia de un ligando quiral, para proporcionar un compuesto de fórmula V:



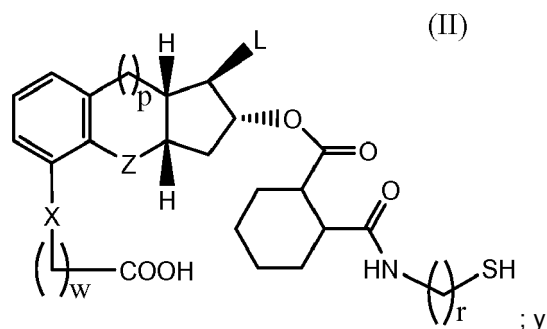
15

- acoplar el compuesto de fórmula V con un compuesto de fórmula VI para formar un tiol, hidrolizar el tiol con un agente hidrolizante para formar un compuesto de fórmula VIII;



20

- desproteger el compuesto de fórmula VIII para formar el compuesto de fórmula II:



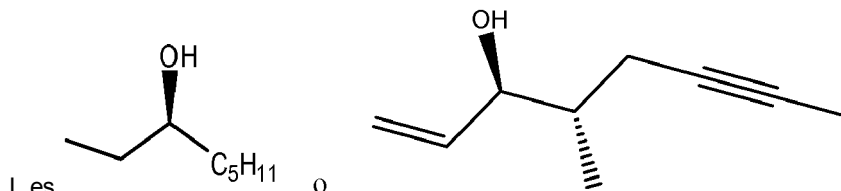
5 acoplar el compuesto de fórmula II con un compuesto de PEG-maleimida para formar el compuesto de fórmula I;

en las que

X es O o CH₂;

10

Z es O o CH₂;



15

p=0 o 1;

r=1-8;

20

t=1, 2 o 3;

w=1, 2 o 3;

PEG es un resto de polietilenglicol;

25

R¹ representa un grupo protector de ácido; y

R⁴ representa un grupo de protección de tiol.

30

2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que R¹ es un grupo bencilo, butilo terciario, dimetoxibencilo, nitrobencilo o un dinitrobencilo.

3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el ligando quiral es un derivado de quinina o quinidina.

35

4. El procedimiento de la reivindicación 3, en el que el derivado de quinina o quinidina es antraquinona-1,4-diil diéter de hidroquinina ((DHQ)₂AQN), antraquinona-1,4-diil diéter de hidroquinidina ((DHQD)₂AQN).

5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el agente hidrolizante es hidróxido de trimetilestaño.

40

6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula VIII se desprotege usando un ácido, preferiblemente ácido trifluoroacético.

7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la pureza del compuesto de fórmula I es de al menos el 90 %, el 95 % o el 99 %.

45

8. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la pureza del compuesto de fórmula II es de al menos el 90 %, el 95 % o el 99 %.

9. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el compuesto de maleimida de polietilenglicol es una maleimida de PEG de 20 KDa de 4 brazos.

10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que X es O, w es 1, r es 6; y t es 2.
11. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que X es CH₂, w es 2, r es 6; y t es 2.

5