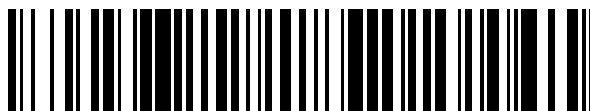


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 712 099**

51 Int. Cl.:

**C12P 41/00** (2006.01)

**C12P 17/12** (2006.01)

**C12P 17/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.07.2014 PCT/EP2014/064307**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.01.2015 WO15004015**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.07.2014 E 14744785 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.11.2018 EP 3019623**

54 Título: **Síntesis biocatalizada de la (R) y (S) 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina ópticamente pura y su uso como sintones quirales para la preparación del antitrombótico (21R)- y (21S)- argatrobán**

30 Prioridad:

**09.07.2013 EP 13175805**

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

**09.05.2019**

73 Titular/es:

**EUTICALS S.P.A. (100.0%)  
Viale Bianca Maria, 25  
20121 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**GRISENTI, PARIDE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 712 099 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

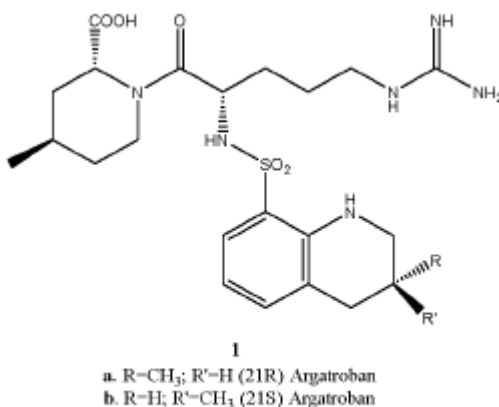
Síntesis biocatalizada de la (R) y (S) 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina ópticamente pura y su uso como sintones quirales para la preparación del antitrombótico (21R)- y (21S)- argatrobán

## Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere al campo de la síntesis biocatalizada de compuestos orgánicos útiles para la preparación de agentes activos. En particular, se refiere a la síntesis de compuestos ópticamente puros útiles como sintones quirales, en particular, para la preparación del compuesto antitrombótico argatrobán.

## Antecedentes

- 10 Argatrobán es un inhibidor de la trombina, la proteasa que desempeña un papel clave en la coagulación de la sangre y la fibrinólisis (Stassen, J.M.; Arnout, J.; Deckmyn, H. *Curr. Med. Chem.*, 2004, 11, 2245-2260. Sanderson, P.E.J.; NaylorOlsen, A.M. *Curr. Med. Chem.*, 1998, 5, 289-304. Steinmetzer, T.; Sturzebecher, J. *Curr. Med. Chem.*, 2004, 11, 2297-2321). El papel crucial de la trombina en la cascada de coagulación lo ha convertido en un objetivo para los agentes antitrombóticos usados en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (Abbenante, G.; Fairlie, D.P. *Med. Chem.* 2005, 1, 71-104). El anticoagulante prescrito más frecuentemente con actividad antitrombina es la heparina, sin embargo, las limitaciones debido a su heterogeneidad química, además de varios eventos adversos, como la trombocitopenia inducida por heparina (HIT), llevaron al desarrollo de inhibidores selectivos de la trombina de bajo peso molecular. Argatrobán (**1**; esquema 1) es una pequeña molécula sintética que inhibe selectivamente y reversiblemente la trombina sin generación de anticuerpos o degradación de proteasas (Yeh, R.W.; Jang, IK-K. *Am. Heart J.* 2006, 151, 1131-1138).



Esquema 1. Fórmula estructural de Argatroban

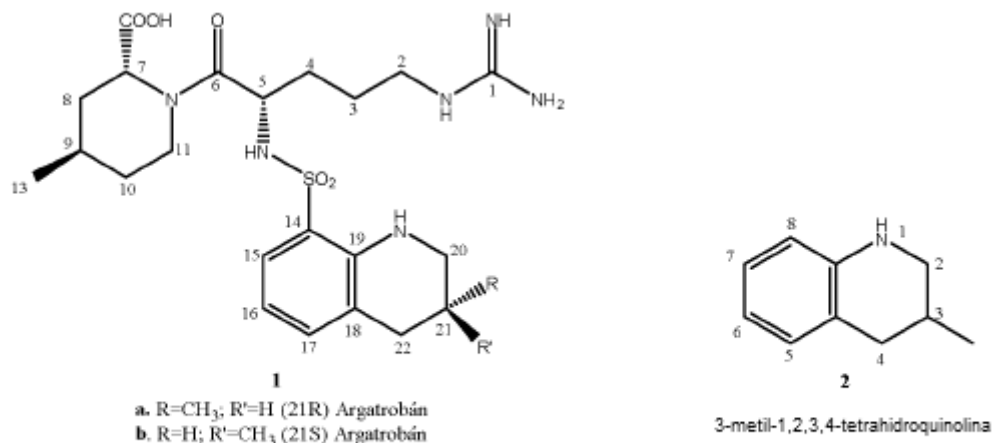
- 30 Después de la identificación por Okamoto y colaborador (documento US4258192, Mitsubishi 1979) el Argatrobán se introdujo en Japón (Novastan®, MD-805), y más tarde en Europa y en EE. UU. para la profilaxis y el tratamiento de la trombosis en pacientes con HIT (Moledina, M.; Chakir, M.; Gandhi, P.J. *J. Thrombosis and Thrombolysis* 2001, 12, 141-149). Tres constituyentes son fácilmente reconocibles en la estructura química **1**, el ácido 4-metil-2-piperidina carboxílico unido a la arginina, unida a su vez a una 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina a través de un grupo sulfonilo. Cuatro centros estereogénicos están presentes en la estructura, tres de los cuales, con una configuración obligatoria, se introdujeron con la ayuda de un auxiliar quiral y mediante el uso de L-arginina entre los materiales de partida. El estereocentro de la tetrahidroquinolina se introduce durante la última etapa de la síntesis mediante la reducción del anillo heteroaromático de una quinolina que produce los (21R)- y (21S)-diastereoisómeros (Cossy, J.; Belotti, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2001, 11, 1989-1992).

- 35 La mezcla diastereoisomérica se usa como fármaco antitrombótico sin la separación de los (21R)- y (21S)-epímeros (Esquema 1) **1a** y **1b**, respectivamente, siempre que su relación sea de 64/36 ± 2. Las configuraciones 21R y 21S se asignaron en 1993 mediante un estudio de rayos X después de la separación mediante HPLC. (21S)-**1b** es el doble de potente que (21R)-**1a** y aproximadamente cinco veces menos soluble en agua (Rawson, T.E.; VanGorp, K.A.; Yang, J.; Kogan, T.P. *J. Pharm. Sci.* 1993, 82, 672-673).

45 Con el fin de caracterizar desde un punto de vista físico-químico los dos epímeros 21 de argatrobán **1**, el presente Inventor intentó su separación por medio de una cristalización fraccionada según un procedimiento publicado

(documento CN 100586946) pero los resultados obtenidos fueron insatisfactorios desde un punto de vista preparativo.

Por lo tanto, todavía se necesitan procedimientos alternativos para la preparación de isómeros (R) y (S) enantioméricamente puros de 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (**2**), es decir, los sintones adecuados para la preparación de argatrobán (21R) y (21S) **1** (Esquema 2).



**Esquema 2.** Fórmula estructural de (21R)- y (21S)- argatrobán (**1**) y su sintón 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (**2**)

En la literatura, se ha informado acerca de dos síntesis de 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina ópticamente activa **2**, ambas destinadas a la preparación de argatrobán **1** o sus análogos: en un caso, el material de partida es un auxiliar quiral tricíclico que, después de una acilación, en cinco etapas conduce a (3R)-metil-6-bromo-1,2,3,4-tetrahidroquinolina ópticamente pura (Brundish, D.; Bull, A.; Donovan, V.; Fullerton, J.D.; Garman, S.M.; Hayler, J.F.; Janus, D.; Kane, P.D.; McDonnel, M.; Smith, G.P.; Wakeford, R.; Walker, C.V.; Howarth, G.; Hoyle, W.; Allen, M.C.; Ambler, J.; Butler, K.; Talbot, M.D. J. Med. Chem. 1999, 42, 4584-4603). La síntesis de (3S)-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina se describe en una patente de Synthelabo: el material de partida, en este caso, es el propanoato de (R)-3-yodo-2-metil de metilo ópticamente puro (Lasalle, G.; Galtier, D.; Galli, F. Patente US 1995, 5.476.942). Esta síntesis presenta rendimientos globales muy bajos.

Sin embargo, todavía no hay disponible un procedimiento para la preparación de (3R)- y (3S)-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina pura a partir de un precursor común y usando el mismo reactivo.

Un procedimiento alternativo podría representarse mediante una hidrogenación catalítica estereoselectiva del anillo de quinolina adecuado, pero se informa de que un complejo de rodio quiral, que proporcionaba resultados óptimos (98% ee y rendimiento cuantitativo) en el caso de las quinolinas 2-sustituidas, no cumplió las expectativas cuando se aplicó a la 3-metilquinolina (Zhou, H.; Li, Z.; Wang, Z.; Wang, T.; Xu, L.; He, Y.; Fan, Q.-H.; Pan, J.; Gu, L.; Chan, A.S.C. Angew. Chem. Int. Ed. 2008, 47, 8464-8467).

Ahora, se ha encontrado un enfoque enzimático para la síntesis de tanto (3R)- como (3S)-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura (compuesto **2**).

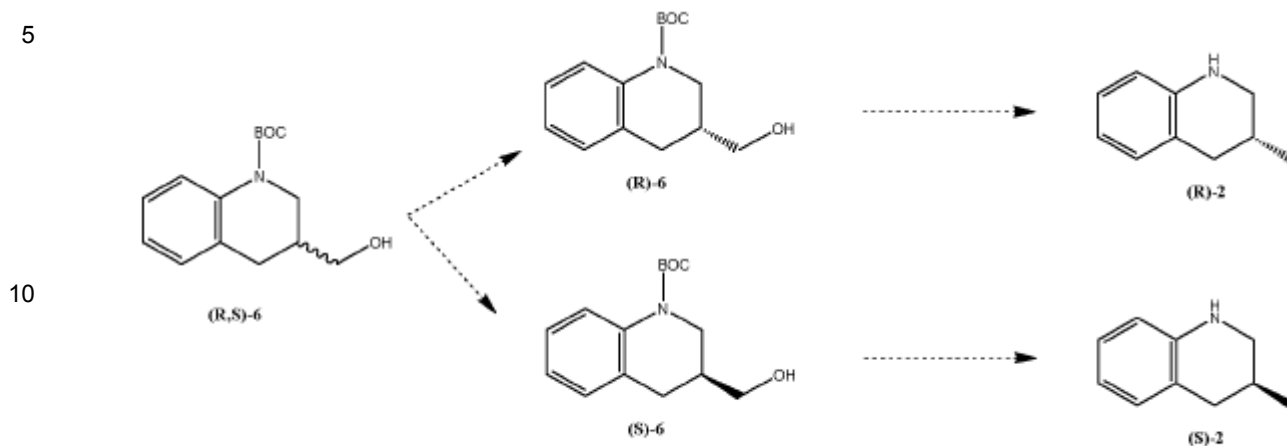
### Sumario de la invención

Dentro de los significados de la presente invención, por la expresión "compuesto enantioméricamente puro" se entiende un enantiómero de un compuesto que tiene un exceso enantiomérico (ee) de  $\geq 99,0\%$ .

La presente invención usa un enfoque enzimático para la síntesis de (3R)- y (3S)-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura. El presente solicitante ensayó una serie de enzimas, que, aunque en un grado de conversión muy bajo, mostraron valores de ee insignificantes.

Sorprendentemente, se ha encontrado que una mezcla racémica de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (véase el Esquema 3 a continuación, compuesto **6**, indicado aquí también como (R,S)-**6**), un compuesto con una función convertible por una enzima hidrolítica, es un sustrato adecuado para la

obtención de los sintones quirales (R) y (S)-6 ópticamente puros, precursores inmediatos de la (R) y (S) 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (compuestos (R)-2 y (S)-2) (Esquema 3).



Esquema 3. Síntesis de (3R)- y (3S)-metil-1,2,3,4-quinolina.

15

Por lo tanto, un objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de isómeros (R) y (S) enantioméricamente puros del compuesto 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina, (R)-2 y (S)-2, respectivamente.

20

Con referencia a los esquemas A, B y C como descripción general y a los esquemas 4, 5 y 6, presentados como realizaciones ejemplares en la siguiente descripción detallada, la presente invención proporciona un procedimiento para la preparación de isómeros (R) y (S) ópticamente puros del compuesto 3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina que comprende las siguientes etapas:

- a) transformar el ácido quinolina-3-carboxílico en el éster de alquilo o arilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado correspondiente, en el que arilo es un resto fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineales o ramificados (R'" del esquema A);
- b) reducir dicho éster al éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina-3-carboxilato correspondiente;
- c) reducir dicho éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina-3-carboxilato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroximetil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina;
- d) proteger el grupo amino de dicha (R,S)-3-(1'-hidroximetil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina usando di-tercetil carbonato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroximetil)-1-tercetiloxycarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina;
- e) someter la mezcla racémica de (R,S)-3-(1'-hidroximetil)-1-tercetiloxycarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina a una primera transesterificación catalizada por lipasa *Pseudomonas fluorescens* (PFL) en una solución toluénica usando un éster de alcohol vinílico con un ácido alquil carboxílico C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal o ramificado como donante de acilo, en el que

35

la reacción se detiene a una tasa de conversión de PFL comprendida entre el 30 y el 40% para obtener el isómero S de la (R,S)-3-(1'-carboalcoxi-metil)-1-tercetiloxycarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina correspondiente, que es hidrolizada posteriormente por la enzima PFL a una tasa de conversión comprendida entre el 60 y el 75% para obtener la (S)-3-(1'-hidroximetil)-1-tercetiloxycarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura correspondiente,

o

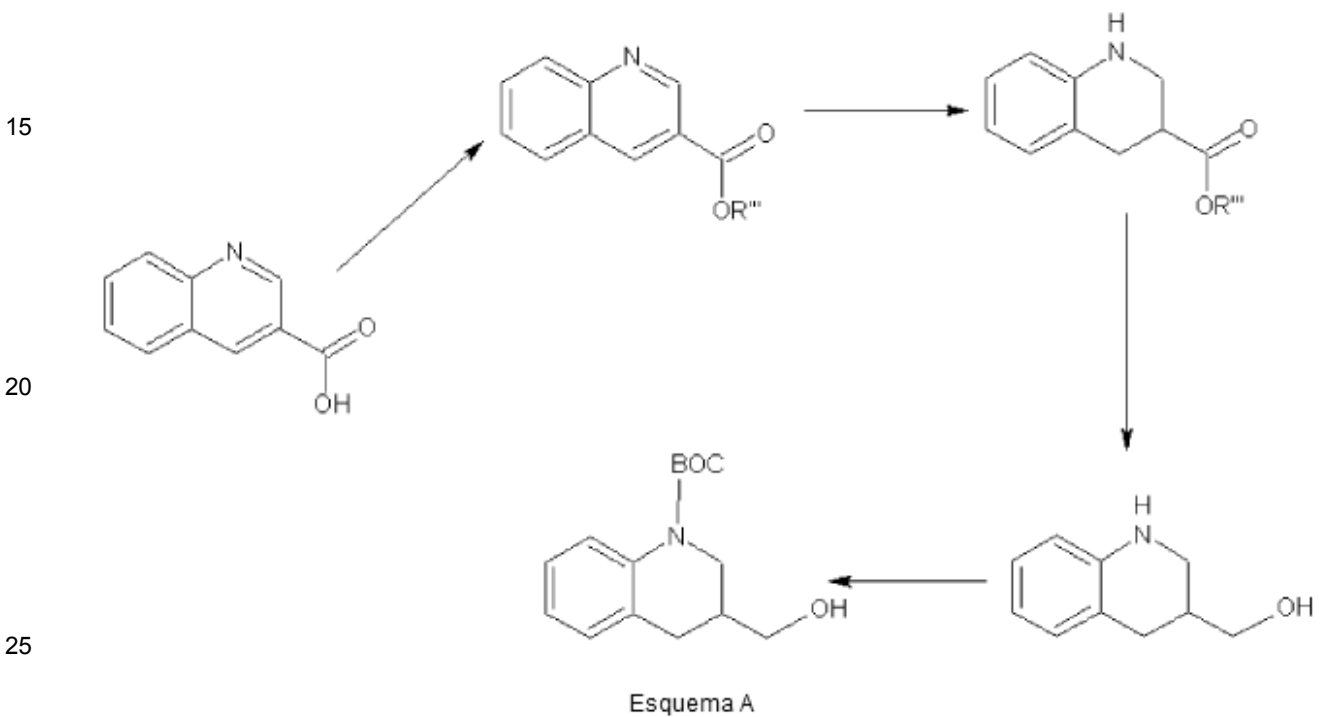
40

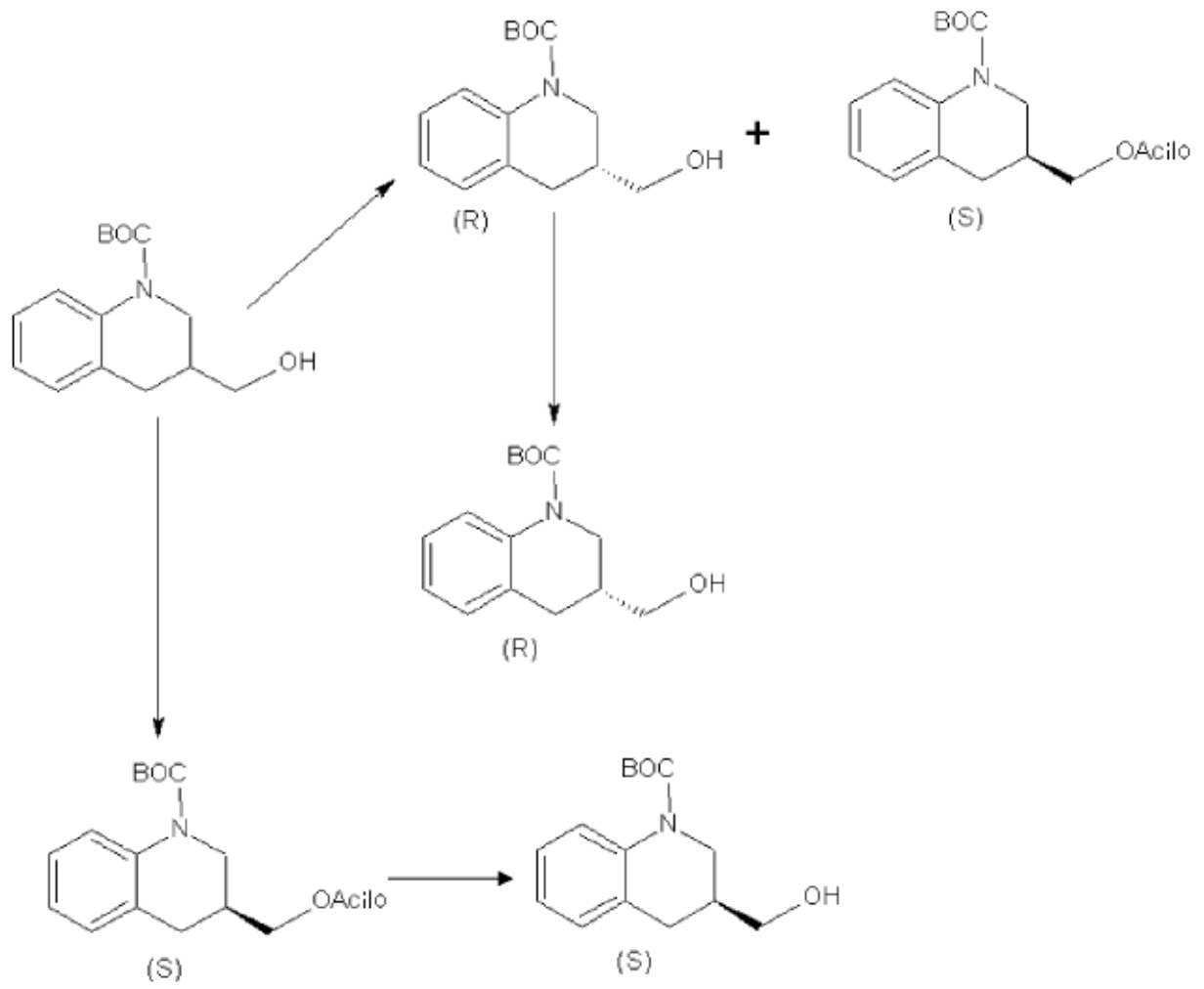
la reacción se detiene a una tasa de conversión de PFL comprendida entre el 55 y el 65% para obtener el compuesto isomérico (R)-3-(1'-hidroximetil)-1-tercetiloxycarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina en una mezcla con (S)-3-(1'-carboalcoxi-metil)-1-tercetiloxycarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina, la primera se somete posteriormente a una segunda reacción de PFL a una tasa de conversión al acilato correspondiente comprendida entre el 30 y el 45% para obtener (R)-3-(1'-hidroximetil)-1-tercetiloxycarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura;

45

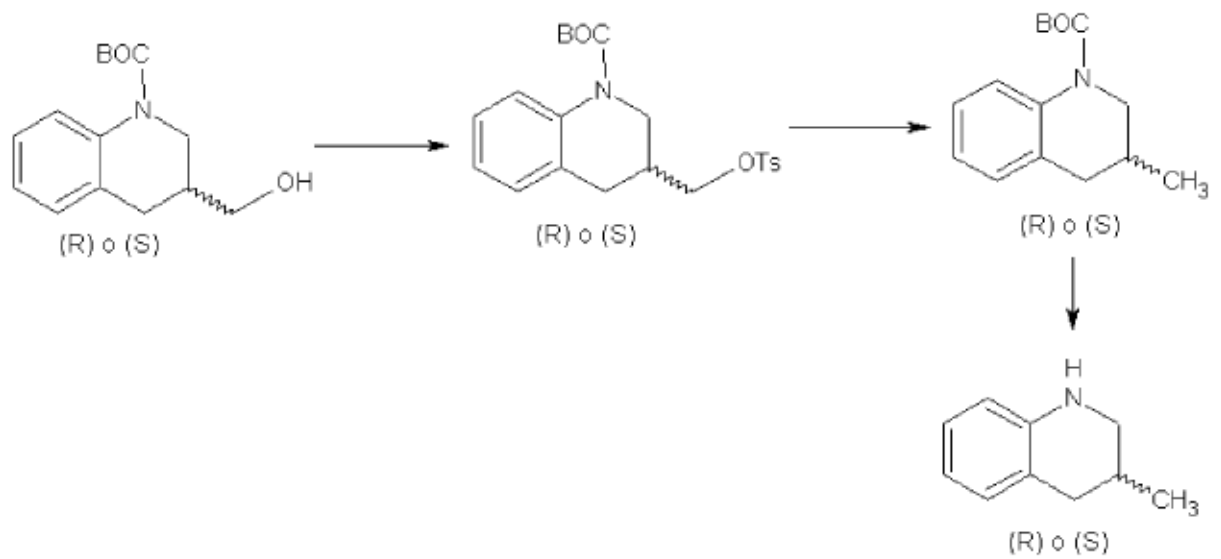
- f) transformar el compuesto (R) o (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina obtenido con un cloruro de sulfonilo R<sup>'''</sup>-SO<sub>2</sub>-Cl, en el que R<sup>'''</sup> es un alquilo, fenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más grupos metilo, obteniendo de esta manera el derivado sulfonilo correspondiente;
- g) reducir dicho derivado de sulfonilo a la (R)- o (S)-3-metil-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina correspondiente usando un hidruro;
- h) eliminar el grupo protector del átomo de nitrógeno amino para obtener el sintón (R) o (S)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente puro correspondiente.

Por consiguiente, la presente invención se caracteriza por un compuesto de partida común, concretamente, ácido quinolina-3-carboxílico y productos intermedios comunes, concretamente, la (R,S) 3-hidroxi-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina, y su derivado N-BOC.





Esquema B



Esquema C

Por lo tanto, un objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de (3S)-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina enantioméricamente pura que comprende las siguientes etapas:

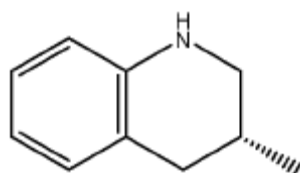
- 5 a) transformar el ácido quinolina-3-carboxílico en el éster de alquilo o arilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado correspondiente, en el que arilo es un resto fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineales o ramificados;
- b) reducir dicho éster al éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina-3-carboxilato correspondiente;
- c) reducir dicho éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina-3-carboxilato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroximetil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina;
- 10 d) proteger el grupo amino de dicha (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina usando carbonato de di-tertbutilo para obtener (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina;
- e) someter la mezcla racémica de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina a una primera transesterificación catalizada por lipasa de *Pseudomonas fluorescens* (PFL) en una solución toluénica usando un éster de alcohol vinílico con ácido alquil carboxílico C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal o ramificado como donador de acilo, en el que la reacción se detiene a una tasa de conversión de PFL comprendida entre el 30 y el 45% para obtener el isómero S de la (R,S)-3-(1'-carboalcoxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina correspondiente, que posteriormente es hidrolizada por la enzima PFL a una tasa de conversión comprendida entre el 60 y el 75% para obtener la (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina enantioméricamente pura correspondiente;
- 15 f) transformar el compuesto (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina obtenido con un cloruro de sulfonilo R"-SO<sub>2</sub>-Cl, en el que R" es un alquilo, fenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más grupos metilo, obteniendo de esta manera el derivado sulfonilo correspondiente;
- g) reducir dicho derivado de sulfonilo a la (S)-3-metil-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina correspondiente usando un hidruro;
- 20 h) eliminar el grupo protector del átomo de nitrógeno amino para obtener el sintón (S)-3-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina enantioméricamente puro correspondiente.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de (3R)-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina enantioméricamente pura que comprende las siguientes etapas:

- 30 a) transformar el ácido quinolina-3-carboxílico en el éster de alquilo o arilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado correspondiente, en el que arilo es un resto fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineales o ramificados;
- b) reducir dicho éster al éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina-3-carboxilato correspondiente;
- c) reducir dicho éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina-3-carboxilato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroximetil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina;
- 35 d) proteger el grupo amino de dicha (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina usando di-tertbutil carbonato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina;
- e) someter la mezcla racémica de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina a una primera transesterificación catalizada por lipasa *Pseudomonas fluorescens* (PFL) en una solución toluénica usando un éster de alcohol vinílico con ácido alquil carboxílico C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal o ramificado como donador de acilo, en el que la reacción se detiene a una tasa de conversión de PFL comprendida entre el 55 y el 65% para obtener el compuesto isomérico (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina en una mezcla con (S)-3-(1'-carboalcoxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina, la primera se somete posteriormente a una segunda reacción de PFL a una tasa de conversión al acilato correspondiente comprendida entre el 30 y el 45% para obtener (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina enantioméricamente pura;
- 40 f) transformar el compuesto (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina obtenido con un cloruro de sulfonilo R"-SO<sub>2</sub>-Cl, en el que R" es un alquilo, fenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más grupos metilo, obteniendo de esta manera el derivado sulfonilo correspondiente;
- 45

- g) reducir dicho derivado de sulfonilo a la (R)-3-metil-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina correspondiente usando un hidruro;
- h) eliminar el grupo protector del átomo de nitrógeno amino para obtener el sintón (R)-3-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina enantioméricamente puro correspondiente.

5 También es un objeto de la presente invención el compuesto 3R-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina (aquí indicado como (R)-2) que tiene la siguiente fórmula estructural (I),



(R)-2

(I)

15 El uso de dicho compuesto (R)-2, así como el enantiómero (S)-2 correspondiente como sintones quirales, en particular para la preparación de (21R)- y (21S)-argatrobán (compuesto 1), respectivamente, está también dentro del alcance de la presente invención.

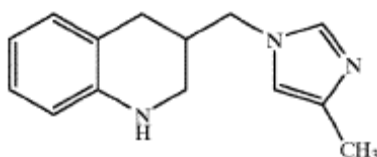
20 Los compuestos (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina; (S)-3-(1'-hidroximetil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina; (S)-3-(1'-hidroximetil-acetato)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina; (S)-3-(1'-sulfoniloxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina; (R)-3-(1'-sulfoniloxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina son intermedios novedosos en el procedimiento descrito anteriormente, por lo tanto, son también objetos de la presente invención. Su uso como sintones quirales en síntesis orgánica es también un objeto de la presente invención.

El nuevo enfoque quimioenzimático de la presente invención tiene las siguientes ventajas principales:

- 25
- posibilidad de preparar fácilmente (R) y (S) 3-metil-1,2,3,4 tetrahydroquinolina ópticamente pura (compuestos (S)-2 y (R)-2), los sintones quirales para la preparación de argatrobán 21-(R) y 21-(S) diastereoméricamente puro;
  - acceso a nuevos análogos de argatrobán diastereoméricamente puros.

30 De hecho, el ácido (R) 3-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina-8-sulfónico ópticamente puro y el cloruro respectivo, que pueden prepararse a partir del compuesto (R)-2 proporcionado por la presente invención, siguiendo los procedimientos descritos (por ejemplo, véase el documento US5476942), es el material de partida para varios análogos modificados de Argatrobán (Brundish, D.; Bull, A.; Donovan, V.; Fullerton, J.D.; Garman, S.M.; Hayler, J.F.; Janus, D.; Kane, P.D.; McDonnel, M.; Smith, G.P.; Wakeford, R.; Walker, C.V.; Howarth, G.; Hoyle, W.; Allen, M.C.; Ambler, J.; Butler, K.; Talbot, M.D. J. Med. Chem. 1999, 42, 4584-4603) modificados en la arginina o en el resto piperidilo, preparados en intentos de desarrollar fármacos con mayor eficacia y biodisponibilidad.

35 Además, y es un objeto de la presente invención, (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina y (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina puede ser útil para obtener los inhibidores de la farnesil proteína transferasa descritos en el documento US6362188, evitando la separación mediante una HPLC preparativa del intermedio imidazolilo (véanse las etapas B-F, columna 125-127 de la patente indicada anteriormente).



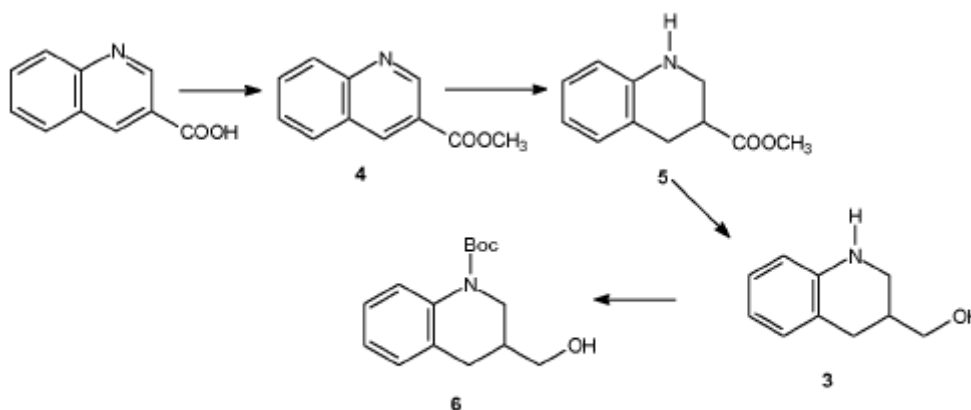
45



### Descripción detallada de la invención

La presente invención se divulga ahora en detalle, mediante una realización ejemplar mostrada en los Esquemas 4, 5 y 6 siguientes, con la intención de que las variaciones de los materiales, las condiciones y los parámetros dentro de los límites definidos en las reivindicaciones independientes estén comprendidas en la presente invención.

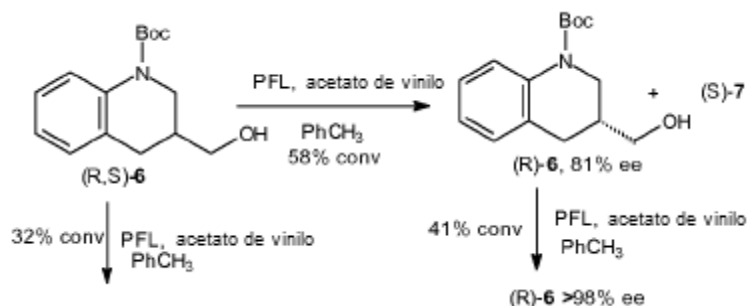
5 Con referencia al Esquema 4 ejemplar siguiente, que ilustra una realización ejemplar de la presente invención, a partir de un éster según se define en el punto Sumario de la Invención anterior, por ejemplo un éster metílico (compuesto **4**) de ácido 3-quinolina carboxílico disponible comercialmente, se prepara 3-carboximetil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (compuesto **5**) (78% a partir de ácido 3-carboxílico) mediante una reducción adecuada, por ejemplo, hidrogenación selectiva con cianoborohidruro de sodio, tal como describe Gotor et al. (Alatorre-Santamaría, S.; Gotor-Fernández, V.; Gotor, V. *Tetrahedron: Asymmetry* 2010, 21, 2307-2313). Otros reactivos adecuados que pueden usarse para llevar a cabo esta reacción incluyen también la hidrogenación catalítica sobre dióxido de paladio en metanol (Nagata, R.; Tanno, N.; Kodo, T.; Ae, N.; Yamaguchi, H.; Nishimura, T.; Antochu, F.; Tatsuno, T.; Kato, T.; Tanaka, Y.; Nakamura, M.; *J. Med. Chem.* 1994, 37, 3956-3968). Posteriormente, el grupo éster del compuesto **5** se reduce a alcohol primario con procedimientos convencionales, por ejemplo, con un hidruro metálico, preferentemente  $\text{LiAlH}_4$  proporcionando el derivado 3-hidroximetilo (compuesto **3**) (89%).

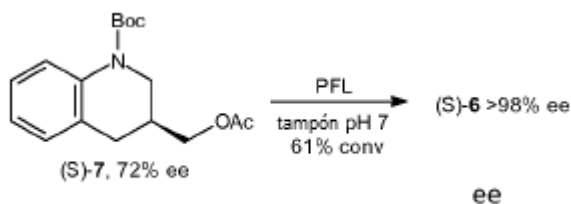


Esquema 4

Después de la protección del grupo amino (80% de rendimiento), con tert-butil carbonato, el tert-butil carbamato (compuesto **6**) obtenido de esta manera se usa para la transesterificación con lipasa *Pseudomonas fluorescens* (PFL).

30 Con referencia al Esquema 5 ejemplar, la mezcla racémica de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (**6**) es sometida a una primera transesterificación catalizada por (PFL) en una solución toluénica usando un éster de alcohol vinílico con un alquil carboxílico  $\text{C}_2\text{-CC}_8$ , lineal o ramificado como donador de acilo, siendo acetilo el grupo acilo preferente. La reacción se detiene a una tasa de conversión de PFL comprendida entre el 30 y el 40% para obtener el isómero S de la 1'-acilato, (R,S)-3-(1'-carboalcoximetil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina correspondiente ((S)-**7**).





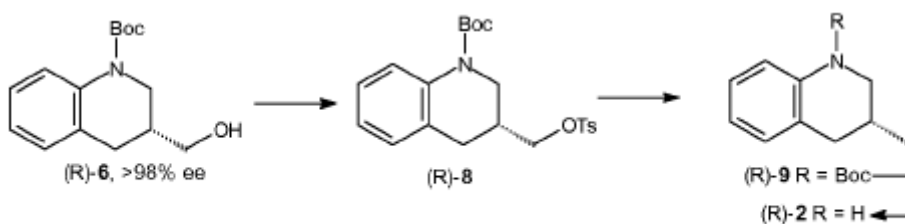
5

Esquema 5

El (+)-acetato 7 enantioméricamente enriquecido se somete a continuación a una hidrólisis catalizada por PFL adicional. La reacción puede ser supervisada mediante GLC y puede detenerse a una tasa de conversión comprendida entre el 60 y el 75%. El alcohol 6 obtenido es enantioméricamente puro ( $\geq 99,0\%$  ee) (determinado mediante HPLC quiral). Para establecer el resultado estereoquímico de la doble resolución, el alcohol 6, acerca del cual se ha informado en la literatura solo como una mezcla racémica (Guzi, T.; Rane, D.F.; Mallams, A.K.; Cooper, A.B.; Doll, R.J.; Girijavallabhan, V.M.; Taveras, A.G.; Strickland, C.; Kelly, J.M.; Chao, J. patente US 2002, 6.362.188), se transforma en un sintón quiral conocido (S) 2 mediante esterificación a tosilato 8, reducción de hidruro de litio y aluminio y eliminación del grupo protector (59% de rendimiento a partir de 6); en el Esquema 6 a continuación, la misma secuencia sintética descrita anteriormente para el isómero (S) (+) acetato 7 se detalla para el isómero (R).

10

15



20

Esquema 6

Por comparación de la rotación óptica de 2 con la informada (documento US5476942) la configuración S se asigna a 3-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina obtenida a partir de (+)- acetato 7. La pureza óptica de 2, determinada mediante HPLC quiral, muestra que el ee del alcohol 6 se mantiene inalterado en el curso de la síntesis.

25

Para obtener (R)-3-metil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina 2, correspondiente a (R)-6 (es decir, el enantiómero de reacción más lenta en el curso de la transformación catalizada por PFL) la transesterificación catalizada por PFL se detiene a tasa de conversión del 55-65%, por ejemplo, del 58%, y se determina el ee del (+)-6 obtenido, después de la acetilación, mediante HPLC en columna quiral. Debido a que el ee moderado obtenido (81%), según la presente invención, el (R)-6 enriquecido se somete a una segunda transesterificación catalizada por PFL como una "continuación" de la primera resolución. El ee  $\geq 99,0\%$  deseado de (R)-6 se consigue deteniendo la reacción a una tasa de conversión del 30-45%, por ejemplo, del 41% (Esquema 5). Siguiendo la misma ruta sintética optimizada previamente para (S)-2, a continuación, el (R)-2 está también disponible como bloque de construcción quiral para la síntesis de cloruro de ácido (R) y (S)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina sulfónico según un procedimiento conocido (documento US5476942).

30

35

Según el conocimiento del presente solicitante, los isómeros (R) y (S) ópticamente puros de los compuestos 3, 6, 7 y 8 así como el compuesto (R)-2 se describen por primera vez y se caracterizan completamente en la presente memoria.

40

Con referencia a la etapa a) del procedimiento de la presente invención, la etapa sintética a partir del ácido quinolina-3-carboxílico al compuesto 4 puede llevarse a cabo según procedimientos bien conocidos por la persona experta, por ejemplo, usando cloruro de tionilo como reactivo en solución metanólica en un intervalo de temperaturas comprendido entre 30 y 65°C, preferentemente a 65°C. Según una realización preferente para el éster metílico, la reacción se lleva a cabo usando metanol como disolvente único a una concentración del ácido quinolina-3-carboxílico comprendido entre 0,10 y 0,005 M, preferentemente 0,05 M y la relación molar relativa entre el cloruro de tionilo y el ácido quinolina-3-carboxílico está comprendida en un intervalo de 1:4 a 1:2, preferentemente 1:3.

45

La etapa sintética b), del compuesto **4** al compuesto **5**, concretamente, una reducción, es también parte del conocimiento común general. En una realización preferente de la presente invención, esta etapa se lleva a cabo en una mezcla de disolventes de disolventes próticos y apróticos polares y usando como agente reductor cianoborohidruro de sodio en un intervalo de pH comprendido entre 3 y 5, preferentemente 4, en un intervalo de temperaturas comprendido entre 15 y 30°C, preferentemente 25°C. Según una realización preferente, el disolvente prótico polar es metanol y el disolvente polar aprótico es tetrahidrofurano en una relación volumétrica relativa comprendida entre 0,3 y 0,5, preferentemente 0,47; la concentración de compuesto **4** está comprendida en un intervalo de 0,1-0,3M, preferentemente 0,2M; La relación molar relativa entre el cianoborohidruro de sodio y el compuesto **4** está comprendida en un intervalo de 3,5-5,0, preferentemente 4,2 y el intervalo de pH se corrige mediante la adición de una solución de ácido clorhídrico 4 M en un disolvente aprótico, preferentemente 1,4-dioxano o tetrahidrofurano.

La etapa sintética c) del compuesto **5** al compuesto **3** es también bien conocida en la técnica y puede ser llevada a cabo, por ejemplo, en un disolvente aprótico polar usando como agente reductor un hidruro típico, por ejemplo, hidruro de litio y aluminio, en un intervalo de temperaturas comprendido entre 15 y 30°C, preferentemente a 25°C. Según una realización preferente, el disolvente aprótico polar es tetrahidrofurano; la concentración de compuesto **5** está comprendido en el intervalo 0,10-0,20 M, preferentemente 0,14 M; la relación molar relativa entre el hidruro de litio y aluminio y el compuesto **5** está comprendida en un intervalo de 3,5-5,0, preferentemente 4.

La etapa sintética d) del compuesto **3** al compuesto **6** se lleva a cabo en una mezcla de agua y un disolvente orgánico polar miscible en agua y usando di-terbutil carbonato como reactivo en presencia de una base inorgánica en un intervalo de temperaturas comprendido entre 15 y 30°C, preferentemente 25°C. Según una realización preferente, el disolvente polar miscible en agua es 1,4 dioxano; la relación volumétrica relativa entre 1,4 dioxano y agua está comprendida entre 0,7 y 0,9, preferentemente 0,8; la concentración de compuesto **3** en la mezcla de reacción está comprendida en un intervalo de 0,005-0,10M, preferentemente 0,05M; la relación molar relativa entre el hidróxido de sodio y el compuesto **3** está comprendida en un intervalo entre 10 y 13, preferentemente 11,5; la relación molar relativa entre el di-terbutil carbonato y compuesto **3** está comprendida en un intervalo entre 9,0 y 11,0, preferentemente 10,4.

La etapa sintética del compuesto **6** al compuesto **7**, realizada para obtener un estándar analítico de (R, S-7), se lleva a cabo en presencia de una base orgánica y se usa como agente acilante anhídrido acético o cloruro de acetilo en un intervalo de temperaturas comprendido entre 15 y 30°C, preferentemente 25°C. Según una realización preferente, la base orgánica es piridina o trietilamina usada también como disolvente de reacción; el agente acilante es anhídrido acético y la concentración de compuesto **6** está comprendida en un intervalo entre 0,30-0,42M, preferentemente 0,34 M; la relación molar relativa entre anhídrido acético y compuesto **6** está comprendida en un intervalo entre 3,0 y 4,0, preferentemente 3,5.

La etapa sintética e) del compuesto (R,S)-**6** al compuesto (R)-**6** se lleva a cabo en dos etapas enzimáticas consecutivas en solución toluénica usando un éster vinílico, preferentemente éster acetílico, como donante de acilo y PFL como enzima en un intervalo de temperaturas comprendido entre 15 y 30°C, preferentemente 25°C.

Según una realización preferente, la concentración de compuesto (R,S)-**6** en la mezcla de reacción está comprendida en un intervalo entre 0,03-0,05 M, preferentemente 0,04 M; la relación molar relativa entre el éster vinílico y el compuesto (R,S)-**6** está comprendida en un intervalo entre 3,8 y 4,6, preferentemente 4,2; la relación relativa entre las unidades enzimáticas de PFL y los mmoles del compuesto (R,S)-**6** está comprendida en un intervalo entre 200 y 300 U/mmol, preferentemente 210 U/mmol, y el éster vinílico es acetato de vinilo, propionato de vinilo o butirato de vinilo. Para obtener el compuesto (R)-**6** ópticamente puro, la tasa de conversión de la primera etapa enzimática debe estar comprendida entre el 55 y el 65%, preferentemente el 60%, al acetato **7** correspondiente y la segunda etapa al 30-40% de conversión en el acetato **7** correspondiente.

La etapa sintética del compuesto (R,S)-**6** al compuesto (S)-**6** se lleva a cabo en dos etapas enzimáticas consecutivas, la primera etapa se lleva a cabo en las mismas condiciones experimentales ya descritas para el compuesto (R)-**6** pero la reacción se detiene a una tasa de conversión comprendida entre el 30-40%, preferentemente el 35%. El compuesto **7** recuperado a partir de la primera etapa enzimática se hidroliza enzimáticamente a continuación a 20-25°C en solución acuosa usando PFL como enzima: esta segunda reacción enzimática se detiene a una tasa de conversión comprendida entre el 65-75%, preferentemente el 70%, al alcohol (S)-**6** correspondiente. Según una realización preferente, la concentración de compuesto **7** en agua está comprendida en un intervalo comprendido entre 0,03-0,10M, preferentemente 0,06M y el valor de pH comprendido entre 6,5 y 7,5, preferentemente 7,0; la relación relativa entre las unidades enzimáticas del PFL y los mmoles del compuesto (S)-**7** están comprendidos en un intervalo entre 220 y 260 U/mmol, preferentemente 240 U/mmol. Lo anterior indica que el intervalo de pH puede alcanzarse usando un tampón de fosfato de 0,10-0,40 M, preferentemente un tampón de fosfato de 0,2M.

Típicamente, la etapa sintética del compuesto (R)-6 al compuesto (R)-8 se realiza en presencia de una base orgánica usando un cloruro de sulfonilo, por ejemplo, cloruro de tosilo, como reactivo en un intervalo de temperaturas comprendido entre 20 y 30°C, preferentemente a 25°C. En una realización preferente, la base orgánica es piridina o trietilamina, la relación molar relativa entre el cloruro de tosilo ejemplar y el compuesto (R)-6 está comprendida entre 1 y 3, preferentemente 2, y la concentración de compuesto (R)-6 en la mezcla de reacción está comprendida entre 2,0 y 1,0M, preferentemente 1,5M.

La etapa sintética del compuesto (R)-8 al compuesto (R)-9 es también conocida en la técnica y puede llevarse a cabo, por ejemplo, usando como agente reductor un hidruro en un disolvente orgánico aprótico en un intervalo de temperaturas comprendido entre 20 y 25°C. En una realización preferente, el hidruro es hidruro de litio y aluminio y el disolvente aprótico es tetrahidrofurano; la concentración de compuesto (R)-8 en la mezcla de reacción está comprendida en un intervalo de 0,10-0,20M, preferentemente 1,5M, y la relación molar relativa entre el compuesto (R)-8 y el hidruro de litio y aluminio está comprendido en un intervalo de 0,20-0,30, preferentemente 0,25.

La etapa sintética del compuesto (R)-9 al compuesto (R)-2 se lleva a cabo según el conocimiento general, por ejemplo, en presencia de un ácido fuerte en un disolvente orgánico aprótico en un intervalo de temperaturas comprendido entre 15 y 25°C. En una realización preferente, el ácido fuerte es ácido trifluoroacético o ácido clorhídrico y el disolvente orgánico es diclorometano, 1,4 dioxano o tetrahidrofurano; la concentración de compuesto (R)-9 en la mezcla de reacción está comprendida entre 0,30 y 0,50 M, preferentemente 0,35 M, y la concentración del ácido en la mezcla de reacción está comprendida en un intervalo de 1,5-2,5 M, preferentemente 2,0 M.

La presente invención se describirá ahora con más detalle mediante los siguientes ejemplos no limitativos.

## Ejemplos

### Materiales y procedimientos

Todos los reactivos y enzimas se adquirieron en Sigma-Aldrich. CAL B CLEA se adquirió en CLEA Technologies (Holanda). Todas las reacciones se supervisaron mediante TLC en placas pre-revestidas con gel de sílice 60 F<sub>254</sub> con un indicador fluorescente (Merck) con detección por pulverización con una solución de etanol con ácido fosfomolibdico al 10% y calentamiento a 110°C. Las cromatografías en columna se realizaron en gel de sílice 60 (malla 70-230) (Merck) con una relación de sustrato/gel de sílice de 1:20. Los análisis de HPLC se realizaron con un dispositivo Merck-Hitachi L-6200; columna quiral: Phenomenex Lux 3 $\mu$  Celulosa 1, 250 x 4,6 mm; longitud de onda de detector de UV 254 nm). Los análisis GLC se realizaron con un dispositivo Hewlett-Packard 5890-series II. Los espectros de <sup>1</sup>H-RMN se registraron en un espectrómetro Bruker-Avance de 500 MHz. Los espectros de <sup>13</sup>RMN C se recopilaron a 125,76 MHz. Los valores de las rotaciones ópticas se registraron en un polarímetro Perkin-Elmer (mod. 343) en una celda de 1 dm a 20°C, estableciendo la longitud de onda a 589 nm. Los espectros de masas se registraron en un instrumento Agilent (mod 6339 Ion trap LC/MS) usando la fuente ESI con polaridad de iones positiva; las muestras se disolvieron en metanol (0,02  $\mu$ g  $\mu$ l<sup>-1</sup>) y se examinaron utilizando la técnica de sonda de entrada directa a una velocidad de infusión de aproximadamente 0,6 ml min<sup>-1</sup>; la adquisición y el análisis de los datos se realizaron con el software Bruker Daltonics Data Analysis 3.3. Los espectros infrarrojos se registraron en un instrumento Perkin Elmer (mod. FT-IR spectrum one) equipado con muestreo de reflexión total atenuado (ATR) universal.

Cuando se emplea, la expresión "tratamiento habitual" incluye la anhidrificación de la fase orgánica con procedimientos convencionales, por ejemplo, sulfato de sodio anhidro, filtración y eliminación del disolvente, por ejemplo, mediante evaporación al vacío.

### **Ejemplo 1. Preparación de quinolina-3-carboxilato de metilo (compuesto 4)**

El ácido quinolin-3-carboxílico (8 g, 46,2 mmol) se disolvió en metanol (900 ml); se añadió cloruro de tionilo (5 ml, 68,5 mmol) a 0°C. La solución se mantuvo a reflujo, bajo agitación (10 horas), supervisando el progreso de la reacción mediante TLC (diclorometano/metanol 9:1). Se añadió una cantidad adicional de cloruro de tionilo (5 ml) y la solución se mantuvo a reflujo (20 horas). Después de enfriar a temperatura ambiente, el disolvente se evaporó a presión reducida. Al residuo, se añadieron agua (400 ml) e hidróxido de sodio 1 M (hasta pH 8); la mezcla se extrajo con diclorometano (4 x 400 ml). Las fases orgánicas recogidas se secaron sobre sulfato de sodio; después de la filtración, el disolvente se eliminó a presión reducida, proporcionando el compuesto 4 del título (7,78 g, 89%) usado directamente en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Las propiedades físico-químicas concuerdan con las informadas (Alatorre-Santamaría, S.; Gotor-Fernández, V.; Gotor, V. Tetrahedron: Asymmetry 2010, 21, 2307-2313).

### **Ejemplo 2. Preparación de 1,2,3,4-tetrahydroquinolina-3-carboxilato de (R,S)-metilo (compuesto 5)**

A una solución de éster metílico **4** (7,68 g, 41 mmol) en tetrahidrofurano seco (150 ml) y metanol (70 ml) se añadió cianoborohidruro de sodio (10,8 g, 172 mmol), bajo atmósfera de nitrógeno. El pH se ajustó a 4, mediante la adición de cloruro de hidrógeno 4M en dioxano y se mantuvo a este valor, en el curso de la reacción (10 horas), mediante la adición de la misma solución de cloruro de hidrógeno. El progreso de la reacción se supervisó mediante TLC (diclorometano/acetona 9:1) hasta la desaparición del material de partida. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo, se añadieron agua (200 ml) y una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (hasta pH neutro). Los disolventes orgánicos se eliminaron a presión reducida. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 200 ml). Las fases orgánicas recogidas se secaron sobre sulfato de sodio y, después del tratamiento habitual, se obtuvo un residuo aceitoso (8,84 g); el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice: mediante elución con hexano/acetato de etilo (9:1) se recuperó **5** puro (6,88 g, 88%). Las propiedades físico-químicas concuerdan con las informadas (Alatorre-Santamaría, S.; Gotor-Fernández, V.; Gotor, V. *Tetrahedron: Asymmetry* 2010, 21, 2307-2313).

### Ejemplo 3. Preparación de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1,2,3,4-tetrahydroquinolina (compuesto 3)

A una suspensión de hidruro de litio y aluminio (5.3 g, 140 mmol) en tetrahidrofurano seco (125 ml), enfriada a 0-5°C, se añadió gota a gota éster **5** (6,68 g, 35 mmol), disuelto en tetrahidrofurano (125 ml). A continuación, se retiró el baño de hielo y la mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente (4 horas), supervisando el progreso de la reacción mediante TLC (diclorometano/acetona 9:1) hasta la desaparición del material de partida. A la mezcla de reacción, enfriada a 0-5°C, se añadieron secuencialmente agua (5,3 ml), solución acuosa de hidróxido de sodio al 15% (5,3 ml) y agua (16 ml). El precipitado blanco se eliminó mediante succión a través de una almohadilla de Celite. El disolvente se evaporó a presión reducida y el aceite **3** recuperado (5,02 g, 89%) se usó en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) 2,23 (m, 1H, H-3); 2,56 (dd, 1H, H-4); 2,88 (dd, H-4); 2,62-2,82 (m, 2H, intercambio con D<sub>2</sub>O); 3,15 (dd, 1H, H-2); 3,46 (ddd, 1H, H-2); 3,64 (dd, 1H, H-1'); 3,72 (dd, 1H, H-1'); 6,53 (d, 1H, H-5); 6,67 (dd, 1H, H-6); 6,97-7,05 (m, 2H, H-7 y H-8).

IR  $\nu_{\max}$  3380,86, 3238,16, 2918,32, 2864,52, 2837,38, 1602,37, 1582,56, 1494,88, 1471,35, 1368,95, 1323,05, 1293,83, 1266,81, 1071,36, 1022,97 cm<sup>-1</sup>

MS (ESI +) m/z 164,1 [M+1]<sup>+</sup>, 186,0 [M+Na]<sup>+</sup>, 375 [2M+2Na]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 4. Preparación de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina (compuesto 6)

A una solución de **3** (4,90 g, 30 mmol) en dioxano (230 ml) y agua (290 ml) se añadieron secuencialmente hidróxido de sodio (14 g, 0,35 mol) y di-tertbutil carbonato (72 ml, 313 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo, bajo agitación, a temperatura ambiente (24 horas). El progreso de la reacción se supervisó mediante TLC (diclorometano/metanol 9:1). El dioxano se eliminó a presión reducida y la fase acuosa restante se extrajo con diclorometano (4 x 70 ml). Las fases orgánicas recogidas se lavaron con agua (2 x 100 ml) hasta pH 7. Después del tratamiento habitual, se obtuvo un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. El derivado Boc **6** deseado (6,3 g, 80%) se recuperó mediante elución con hexano/acetato de etilo 8:2. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1,54 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 1,89 (br s, 1H, intercambio con D<sub>2</sub>O); 2,31 (m, 1H, H-3); 2,53 (dd, 1H, H-4); 2,99 (dd, 1H, H-4); 3,50 (dd, 1H, H-2); 3,57-3,65 (m, 2H, H-2 and H-1'); 3,92 (dd, 1H, H-1'); 7,04 (dd, 1H, H-6); 7,11 (d, 1H, H-5); 7,16 (dd, 1H, H-7); 7,59 (d, 1H, H-8).

IR  $\nu_{\max}$  3430,76, 2975,98, 2929,84, 1690,36, 1673,95, 1492,20, 1367,09, 1159,36 cm<sup>-1</sup>

MS (ESI +) m/z 286,1 [M + Na]<sup>+</sup>, 549,1 [2M + Na]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 5. Preparación de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahydroquinolina, 1'-acetato (compuesto 7)

A una solución de (R,S)-**6** (0,200 g, 0,76 mmol) en piridina seca (2 ml) se añadió anhídrido acético (0,25 ml, 2,64 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche. El análisis de TLC (hexano/acetato de etilo 7:3) mostró una conversión completa. La solución se vertió en agua enfriada con hielo (40 ml) y el producto se recuperó mediante extracción con diclorometano (3 x 40 ml). Las fases orgánicas recogidas se lavaron con agua (3 x 40 ml). Después del tratamiento habitual se recuperó acetato **7** crudo. La purificación en cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo 9:1 como eluyente) proporcionó **7** puro (0,204 g, 88%). <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1,55 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>C); 2,11 (s,  $\delta$  3H, CH<sub>3</sub>CO); 2,37 (m, 1H, H-3); 2,58 (dd, 1H, H-4); 2,93 (dd, 1H, J = 16,02 y 5,65 Hz, H-4); 3,37 (dd, 1H, H-2); 3,96-4,16 (m, 3H, 2H-1' y H-2); 7,02 (dd, 1H, H-6); 7,11 (d, 1H, H-5); 7,17 (dd, 1H, H-7); 7,65 (d, 1H, H-8).

IR  $\nu_{\max}$  2976,11, 2932,21, 1741,73, 1697,36, 1492,67, 1367,59, 1239,61, 1161,70  $\text{cm}^{-1}$

MS (ESI +) m/z 328,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 344  $[\text{M}+\text{K}]^+$ .

**Ejemplo 6. Aislamiento de (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (compuesto (R)-6)**

5 Primera resolución

A una solución de (R,S)-**6** (1,95 g, 7,4 mmol) en tolueno (168 ml) se añadieron secuencialmente acetato de vinilo (2,93 ml, 31,4 mmol) y PFL (36 mg, 40,2 U/mg). La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente, bajo agitación vigorosa en un matraz de tapón de rosca. El progreso de la reacción se supervisó mediante GLC (columna: HP-5 WB, 30 m, 0,88  $\mu\text{m}$ , ID 0,53 mm; temperatura de horno: 160°C, isotérmica; portador  $\text{N}_2$ ; 140 kPa).  $R_t$  Alcohol **6** 9,8 minutos; acetato **7** 15,5 minutos. La reacción se detuvo a una conversión del 58%; la enzima se eliminó mediante filtración y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo (1,91 g) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. Mediante elución con hexano/acetato de etilo 9:1 se recuperó acetato **7** (1,02 g, 45%). La elución con hexano/acetato de etilo 7:3 proporcionó alcohol **6** (0,69 g, 35%). El ee de (R)-**6** (81%) se determinó, después de la acetilación (anhídrido acético en piridina) mediante análisis HPLC en fase estacionaria quiral (eluyente: n-hexano/2-propanol 100:2; caudal 0,250  $\text{ml min}^{-1}$ ), en comparación con el cromatograma de acetato racémico **7**.  $R_t$  (S)-**7** 48,72; (R)-**7** 52,34. Se requirió la acetilación para separar de manera adecuada los isómeros (R) y (S).

Segunda resolución

20 A una solución de **6** (81% ee, 0,600 g, 2,28 mmol), obtenida a partir de la primera resolución, en tolueno (60 ml), se añadieron acetato de vinilo (0,9 ml, 9,65 mmol) y PFL (13 mg). La mezcla se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente hasta una conversión del 41%. El residuo, obtenido después de la filtración y evaporación del disolvente, se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice. Mediante elución con hexano/acetato de etilo 9:1 se obtuvo acetato **7** puro (0,278 g, 40%). (R)-alcohol **6** (0,300 g, 50%) se obtuvo mediante elución con hexano/acetato de etilo 7:3.

25 (R)-**6**  $[\alpha]_D^{20} + 11,8$  (c 1 en cloroformo). ee > 98% (de HPLC)

(R)-**7** obtenido mediante acetilación de (R)-**6**  $[\alpha]_D^{20} - 28,7$  (c 1 en cloroformo).

**Ejemplo 7. Aislamiento de (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (compuesto (S)-6)**

Primera resolución

30 La transterificación irreversible de (R,S)-**6** (1,21 g, 4,6 mmol) se llevó a cabo en las mismas condiciones descritas para la preparación de (R)-**6** pero la reacción se detuvo a una conversión del 32%. El residuo (1,29 g), obtenido después del tratamiento habitual, se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice. Mediante elución con hexano/acetato de etilo 9:1 se recuperó (S)-acetato **7** como un aceite (0,40 g, 29%, 76% ee de HPLC); se recuperó (R)-**6** sin reaccionar mediante elución con hexano/acetato de etilo 8:2 como un aceite (0,80 g, 65%).

35 Segunda resolución

40 A una suspensión de acetato **7**, obtenida a partir de la primera resolución, (76% ee, 0,310 g, 1 mmol) en tampón fosfato (pH 7, 18 ml), se añadió PFL (6 mg). El pH 7 de la mezcla se mantuvo en el curso de la reacción (5 horas) mediante la adición de una solución acuosa de hidróxido de sodio 0,1 M hasta una conversión calculada del 70%. El progreso de la reacción (61%) se verificó mediante GLC (véase más arriba las condiciones de análisis); la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 15 ml). Las fases orgánicas recogidas se lavaron con agua (2 x 50 ml) y, después del tratamiento habitual, se recuperó un residuo oleoso (0,28 g); la purificación mediante cromatografía en columna de gel de sílice proporcionó acetato **7** puro (0,085 g, 28%, hexano/acetato de etilo 9:1 como eluyente) y (S)-alcohol **6** (0,153 g, 58%, hexano/acetato de etilo 8:2 como eluyente. (S)-**6** mostró un ee >98% (mediante HPLC, eluyente: n-hexano/2-propanol 100:2; caudal 0,250  $\text{ml min}^{-1}$ ).

45  $[\alpha]_D^{20} - 12,4$  (c 1 en cloroformo).

**Ejemplo 8. Preparación de (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina, 1'-tosilato (compuesto (R)-8)**

A una solución de (R)-**6** (e > 98%, 0,27 g, 1,03 mmol) en piridina (0,7 ml), enfiada en un baño de hielo, se añadió lentamente cloruro de tosilo (0,38 g, 2 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente hasta la

desaparición del material de partida (4 horas, mediante TLC hexano/acetato de etilo 7:3). La solución se vertió a agua enfriada con hielo (5 ml). El precipitado se recuperó mediante succión, se lavó con agua (3 x 5 ml) y se secó a presión reducida. El tosilato **8** recuperado (0,35 g, 82%) se usó en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,53 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 2,39 (m, 1H, H-3), 2,48 (s, 3H, CH<sub>3</sub>Ar); 2,56 (dd, 1H, H-4), 2,89 (dd, 1H, H-4); 3,34 (dd, 1H, H-2); 3,94 (dd, 1H, H-2); 4,01 (m, 2H, H-4); 7,00 (dd, 1H, H-6); 7,05 (d, 1H, H-5); 7,16 (dd, 1H, H-7); 7,37 (d, 2H, Ar-CH<sub>3</sub>); 7,63 (d, 1H, H-8); 7,81 (d, 2H, ArSO<sub>2</sub>).

#### Ejemplo 9. Preparación de (R)-3-metil-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (compuesto (R)-9)

A una solución de tosilato (R)-**8** (0,35 g, 0,84 mmol) en tetrahidrofurano seco (7 ml) se añadió hidruro de litio y aluminio (0,143 g, 3,77 mmol). La reacción se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente (2 horas) hasta la desaparición del material de partida (mediante TLC hexano/acetato de etilo 9:1). Se añadieron secuencialmente agua (0,14 ml), solución acuosa de hidróxido de sodio al 15% (0,14 ml) y agua (0,42 ml). El precipitado blanco se eliminó mediante succión en una almohadilla de Celite y el filtrado se evaporó a presión reducida, produciendo un residuo aceitoso (0,178 g, 86%) que se usó en la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional. Para propósitos analíticos, una muestra (50 mg) se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. La elución con hexano/acetato de etilo 99:1 proporcionó **9** puro. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,08 (d, 3H, J = 7,02 Hz, CH<sub>3</sub>-1'); 1,55 (s, 9H, CH<sub>3</sub>); 2,07 (m, 1H, H-3); 2,44 (dd, 1H, H-4); 2,89 (dd, 1H, H-4); 3,12 (dd, 1H, H-2); 3,99 (dd, 1H, H-2); 7,00 (dd, 1H, H-6); 7,08 (d, H-5); 7,15 (dd, 1H, H-7); 7,69 (d, 1H, H-8).

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -11,6 (c 1 en cloroformo).

IR ν<sub>max</sub> 2973,54, 2928,69, 2873,75, 1694,36, 1491,85, 1366,44, 1152,17 cm<sup>-1</sup>

MS (ESI +) m/z 192,2 [M-C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>]<sup>+</sup>, 270,2 [M+Na]<sup>+</sup>, 517,2 [2M+Na]<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 10. Preparación de (R)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina (compuesto (R)-2)

A una solución de (R)-**9** (0,160 g, 0,65 mmol) en diclorometano (1,5 ml) se añadió ácido trifluoroacético (0,26 ml); La solución se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche. El análisis mediante TLC (hexano/acetato de etilo 8:2) mostró una conversión completa. La fase orgánica se trató con una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio (2 x 5 ml) y a continuación se lavó con agua (3 x 5 ml). Después del tratamiento habitual, el residuo oleoso se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice. La elución con hexano/acetato de etilo 99:1 proporcionó (R)-**2** puro (0,080 g, 83%) como un aceite. El ee (99,4%) se determinó mediante HPLC (hexano/2-propanol 9:1 como eluyente; caudal 0,5 ml min<sup>-1</sup>). R<sub>t</sub> (R)-**2** 15,33, (S)-**2** 12,99 min. <sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,08 (d, 3H, H-1'); 2,11 (m, 1H, H-3); 2,46 (dd, 1H, H-4); 2,81 (ddd, 1H, H-4); 2,93 (dd, 1H, H-2); 3,31 (ddd, 1H, H-2); 6,56 (d, 1H, H-5); 6,66 (dd, 1H, H-7); 6,98 (d, 1H, H-8); 7,01 (dd, 1H).

IR ν<sub>max</sub> 3318,07, 2943,52, 2831,70, 1448,90, 1415,85, 1114,99, 1022,01 cm<sup>-1</sup>

EM (ESI +) m/z 148,0 [M+1]<sup>+</sup>. ms/ms 106,0 [M-CH<sub>3</sub>CHCH<sub>2</sub>]<sup>+</sup>

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -73,4 (c 3, en metanol)

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de (3S)-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura que comprende las etapas siguientes:

- 5 a) transformar el ácido quinolina-3-carboxílico en éster de alquilo o arilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado correspondiente, en el que arilo es un resto fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineales o ramificados;
- b) reducir dicho éster a éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina-3-carboxilato correspondiente;
- c) reducir dicho éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina-3-carboxilato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina;
- 10 d) proteger el grupo amino de dicha (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina usando di-tertbutil carbonato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina;
- e) someter la mezcla racémica de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina a una primera transesterificación catalizada por lipasa *Pseudomonas fluorescens* (PFL) en una solución toluénica usando un éster de alcohol vinílico con un ácido alquil carboxílico C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal o ramificado como donante de acilo, en el que la reacción se detiene a una tasa de conversión de PFL comprendida entre el 30 y el 40% para obtener el isómero S de la (R,S)-3-(1'-carboalcoxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina correspondiente, que es hidrolizada posteriormente por la enzima PFL a una tasa de conversión comprendida entre el 60 y el 75% para obtener la (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura correspondiente;
- 15 f) transformar el compuesto (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina con un cloruro de sulfonilo R"-SO<sub>2</sub>-Cl, en el que R" es un alquilo, fenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más grupos metilo, obteniendo de esta manera el derivado sulfonilo correspondiente;
- g) reducir dicho derivado de sulfonilo a la (S)-3-metil-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina correspondiente usando un hidruro;
- 20 h) eliminar el grupo protector del átomo de nitrógeno amino para obtener el sintón (S)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente puro correspondiente.
- 25

2. Procedimiento de preparación de (3R)-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura que comprende las etapas siguientes:

- 30 a) transformar el ácido quinolina-3-carboxílico al éster de alquilo o arilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado correspondiente, en el que arilo es un resto fenilo o bencilo, opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado;
- b) reducir dicho éster al éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina-3-carboxilato correspondiente;
- c) reducir dicho éster de (R,S)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina-3-carboxilato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina;
- 35 d) proteger el grupo amino de dicha (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1,2,3,4-tetrahidroquinolina usando di-tertbutil carbonato para obtener (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina;
- e) someter la mezcla racémica de (R,S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina a una primera transesterificación catalizada por lipasa *Pseudomonas fluorescens* (PFL) en una solución toluénica usando un éster de alcohol vinílico con un ácido alquil carboxílico C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub> lineal o ramificado como donante de acilo, en el que la reacción se detiene a una tasa de conversión de PFL comprendida entre el 55 y el 65% para obtener el compuesto isomérico (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina en una mezcla con (S)-3-(1'-carboalcoxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina, la primera se somete posteriormente a una segunda reacción de PFL a una tasa de conversión al acilato correspondiente comprendida entre el 30 y el 45% para obtener (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura;
- 40 f) transformar el compuesto (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina obtenido con un cloruro de sulfonilo R"-SO<sub>2</sub>-Cl, en el que R" es un alquilo, fenilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con uno o más grupos metilo, obteniendo de esta manera el derivado sulfonilo correspondiente;
- 45



g) reducir dicho derivado de sulfonilo a la (S)-3-metil-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina correspondiente usando un hidruro;

h) eliminar el grupo protector del átomo de nitrógeno amino para obtener el sintón (S)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente puro correspondiente.

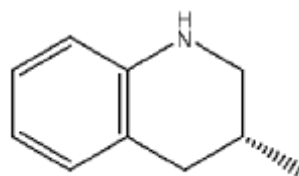
5 3. Procedimiento según la reivindicación 1 o 2, en el que en la etapa a) dicho éster es éster metílico.

4. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que en la etapa b) dicha reducción es una hidrogenación selectiva con cianoborohidruro de sodio.

5. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que en la etapa c) dicha reducción de dicho éster se realiza con un hidruro metálico.

10 6. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que en la etapa e) dicho éster vinílico es acetato de vinilo.

7. (R)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura de fórmula (I):



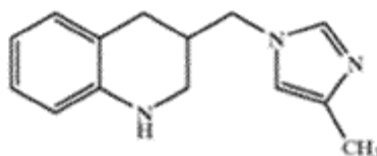
(R)-2

8. Uso de la (R)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina según la reivindicación 7 para la preparación de (21R)-argatrobán diastereoméricamente puro y sus análogos.

20 9. Uso de (S)-3-metil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente puro para la preparación de (21S)-argatrobán diastereoméricamente puro y sus análogos.

10. Uso de (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura y (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina enantioméricamente pura para la preparación compuesto (R) o (S) enantioméricamente puro respectivamente, de fórmula (II)

25



30 11. Compuesto seleccionado de entre el grupo que consiste en (R)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina; (S)-3-(1'-hidroxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina; (S)-3-(1'-hidroximetil-acetato)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina; (S)-3-(1'-sulfoniloxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1,2,3,4-tetrahidroquinolina y (R)-3-(1'-sulfoniloxi-metil)-1-tertbutiloxicarbonil-1, 2,3,4-tetrahidroquinolina.

12. Uso del compuesto según la reivindicación 11 como intermedio en el procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6.

35 13. Uso del compuesto según la reivindicación 11 como sintón quiral en síntesis orgánica.