

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 807 587**

51 Int. Cl.:

**C07D 311/12** (2006.01)

**C07D 311/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.09.2014 PCT/PT2014/000061**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.03.2015 WO15038022**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2014 E 14772233 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.04.2020 EP 3044215**

54 Título: **Procedimientos de preparación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares e intermedios para uso en estos**

30 Prioridad:

**13.09.2013 GB 201316410**

**18.11.2013 GB 201320366**

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

**23.02.2021**

73 Titular/es:

**BIAL-PORTELA & CA, S.A. (100.0%)  
À Avenida da Siderurgia Nacional  
4745-457 S. Mamede do Coronado, PT**

72 Inventor/es:

**RUSSO, DOMENICO;  
WAHNON, JORGE;  
MATON, WILLIAM;  
WEBER, BEAT T.;  
JERÓNIMO, PAULA;  
SOUSA, LUÍSA;  
BARROCAS, PEDRO;  
PIRES, RITA;  
LIMA, RICARDO y  
VASCONCELOS, TEÓFILO**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

ES 2 807 587 T3

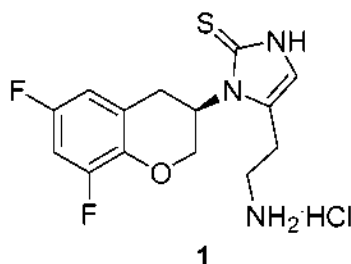
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

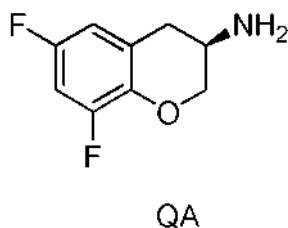
Procedimientos de preparación de medicamentos para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares e intermedios para uso en estos

5 La presente invención se refiere a procedimientos mejorados de preparación de intermedios útiles en la síntesis de inhibidores selectivos periféricamente de dopamina- $\beta$ -hidroxilasa. La presente invención se refiere también a compuestos novedosos para uso en los procedimientos.

10 Clorhidrato de (*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona (el compuesto de la fórmula 1, a continuación) es un inhibidor potente, no tóxico y periféricamente selectivo de D $\beta$ H, que puede ser usado para el tratamiento de ciertos trastornos cardiovasculares. El compuesto 1 es desvelado en el documento WO2004/033447, junto con los procedimientos para su preparación.



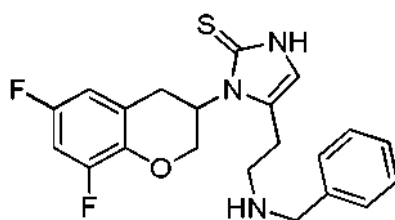
15 El procedimiento desvelado en el documento WO2004/033447 implica la reacción de clorhidrato de (*R*)-6,8-difluorocroman-3-ilamina (la estructura de (*R*)-6,8-difluorocroman-3-ilamina es mostrada a continuación como compuesto QA), éster ter-butílico del ácido [4-(ter-butildimetil-silanilo)-3-oxobutil]carbámico y tiocianato de potasio.



20 (*R*)-6,8-difluorocroman-3-ilamina (compuesto QA) es un intermedio clave en la síntesis del compuesto 1. La estereoquímica en el átomo de carbono en el cual la amina es adjuntada da lugar a la estereoquímica del compuesto 1, de modo que es ventajoso que el compuesto QA esté presente en forma tan pura como sea posible. En otras palabras, el enantiómero (*R*) del compuesto QA debe ser predominante, con poco enantiómero (*S*) presente. De este modo, el procedimiento de preparación del compuesto QA producirá ventajosamente el compuesto QA con exceso enantiomérico (ee) tan alto como sea posible.

25 Ahora han sido hallados procedimientos ventajosos de preparación, por ejemplo, del compuesto de la fórmula QA. En un aspecto, los procedimientos implican una etapa de biotransformación. En otro aspecto, los procedimientos implican transformación química. Los procedimientos también pueden ser empleados en la preparación de precursores similares útiles en la producción de otros inhibidores selectivos periféricamente de dopamina- $\beta$ -hidroxilasa.

El documento WO2008/136695 desvela un compuesto de la fórmula YA, su enantiómero (*R*) o (*S*), una mezcla de sus enantiómeros (*R*) y (*S*), o sales farmacéuticamente aceptables de estos.



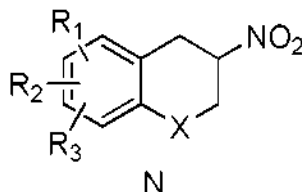
YA

Ha sido descubierto que el enantiómero (*R*) del compuesto de la fórmula YA es un inhibidor potente de dopamina-p-hidroxilasa que tiene alta potencia y acceso significativamente reducido al cerebro.

- 5 Como es desvelado en el documento WO 2008/136695, el compuesto de la fórmula YA puede ser preparado por reacción del compuesto de la fórmula 1 con benzaldehído bajo condiciones de alquilación reductiva. En particular, (*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluoro-croman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona y benzaldehído pueden hacerse reaccionar en presencia de un disolvente o una mezcla de disolventes, y un agente reductor tal como cianoborohidruro de sodio o triacetoxiborohidruro de sodio.

### Sumario de la invención

- 10 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado el enantiómero (*R*) o (*S*) de un compuesto de la fórmula N, o una mezcla de los enantiómeros (*R*) y (*S*)



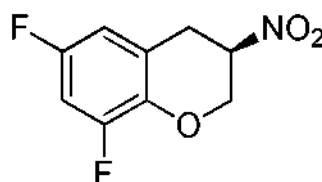
N

- 15 en el que: X es CH<sub>2</sub>, oxígeno o azufre; R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son iguales o diferentes y significan hidrógenos, halógenos, grupos alquilo, alquiloxi, hidroxilo, nitro, alquilcarbonilamino, alquilamino o dialquilamino, en el que: el término alquilo significa cadenas de hidrocarburo, rectas o ramificadas, que contienen de uno a seis átomos de carbono, opcionalmente sustituidos por grupos arilo, alcoxi, halógeno, alcoxycarbonilo o hidroxycarbonilo; el término arilo significa un grupo fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido por grupo alquiloxi, halógeno o nitro; y el término halógeno significa flúor, cloro, bromo o yodo.

- 20 X puede ser oxígeno. Uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son flúor. Preferentemente, ambas de las fracciones en las posiciones 5 y 7 del anillo aromático son hidrógeno y ambos de los grupos en las posiciones 6 y 8 son flúor. Preferentemente, el compuesto está en la forma de enantiómero (*R*).

Preferentemente: X es O; la fracción en las posiciones 5 y 7 del anillo aromático son hidrógeno y los grupos en las posiciones 6 y 8 son flúor; y el compuesto está en la forma del enantiómero (*R*).

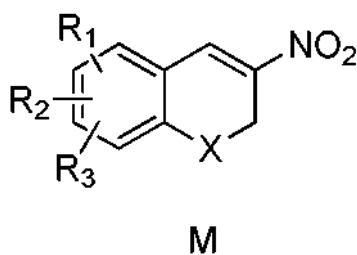
Preferentemente, el compuesto de la fórmula N está en la forma de enantiómero (*R*) y tiene la fórmula R-NA:



R-NA

25

El compuesto de la fórmula N puede ser preparado a partir del compuesto correspondiente de la fórmula M:

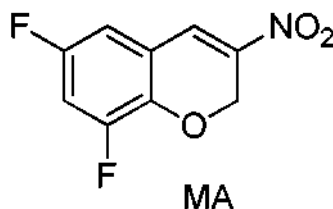


en el que: X, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los mismos significados anteriores.

X puede ser oxígeno. Uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son flúor. Preferentemente, ambas de las fracciones en las posiciones 5 y 7 del anillo aromático son hidrógeno y ambos de los grupos en las posiciones 6 y 8 son flúor (que es el compuesto de la fórmula MA desvelado en la presente memoria).

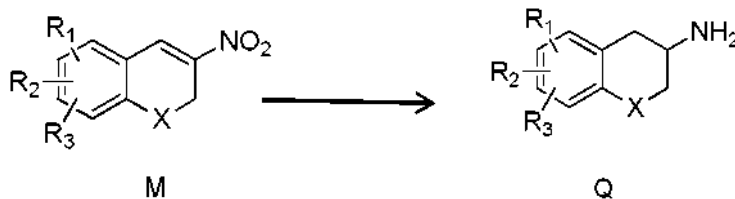
Preferentemente: X es O; y ambos de la fracción en las posiciones 5 y 7 del anillo aromático son hidrógeno y los grupos en las posiciones 6 y 8 son flúor (este es el compuesto MA desvelado en la presente memoria).

Un compuesto preferente de la fórmula M para uso en el procedimiento anterior es el compuesto de la fórmula MA, que forma otro aspecto de la presente invención:



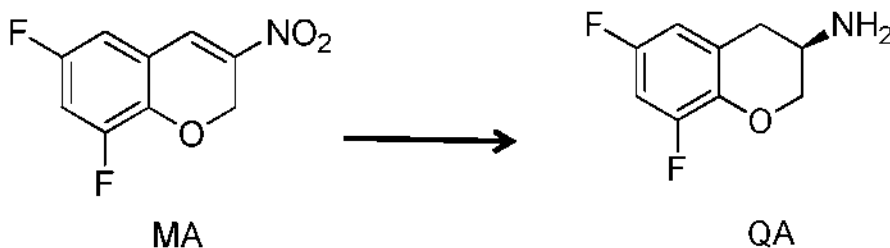
Ventajosamente, los compuestos M y N son productos versátiles que pueden ser usados como materiales de partida o intermedios en una variedad de procedimientos.

Es desvelado en la presente memoria el uso del compuesto M descrito con anterioridad en un procedimiento de preparación de un compuesto de la fórmula Q, el enantiómero individual (*R*) o (*S*) del compuesto Q, o una mezcla del enantiómero (*R*) y (*S*) del compuesto Q; o una sal del mismo.



en el que: X, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son definidos con anterioridad. X puede ser oxígeno. Opcionalmente, uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son halo; adecuadamente flúor, cloro, bromo o yodo. Preferentemente, ambas de las fracciones en las posiciones 5 y 7 del anillo aromático son hidrógeno y ambos de los grupos en las posiciones 6 y 8 son halo; adecuadamente ambos son flúor, cloro, bromo o yodo. Preferentemente, los grupos halo son flúor o bromo; mucho más preferentemente flúor.

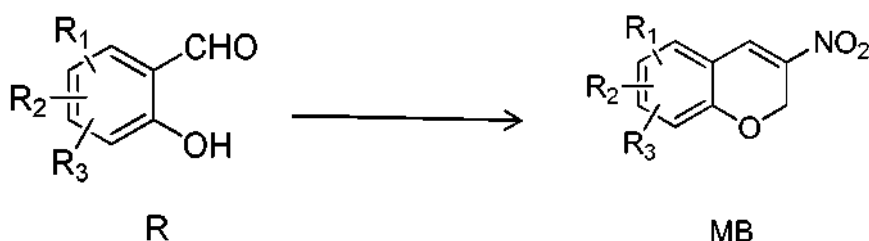
Preferentemente, el compuesto M es usado para preparar el enantiómero (*R*) del compuesto Q. Preferentemente, el compuesto MA es usado para preparar el compuesto QA o una sal del mismo:



El compuesto de la fórmula Q puede ser usado para preparar los compuestos de la fórmula 1 y YA usando cualquier procedimiento desvelado en la presente memoria o cualquier procedimiento conocido en la técnica anterior, por ejemplo, usando un procedimiento divulgado en el documento WO2004/033447 o WO2008/136695.

- 5 Las sales adecuadas del compuesto Q incluyen sales de L-tartrato, clorhidrato, mesilato, tosilato, trifluoroacetato, citrato, glicolato, oxalato y acetato. La sal preferente es la sal de L-tartrato. Adecuadamente, el compuesto QA es preparado indistintamente en forma de base libre o como la sal de L-tartrato del mismo. Preferentemente, el compuesto QA es preparado como la sal de L-tartrato del mismo.

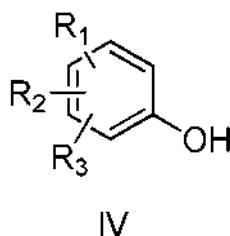
- 10 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado un procedimiento de preparación del compuesto MB, comprendiendo el procedimiento hacer reaccionar un compuesto de la fórmula R con 2-nitroetanol o nitroetileno para obtener el compuesto MB.



El compuesto MB es el compuesto de la fórmula M, en el que X es O. R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son definidos con anterioridad. Uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son flúor. Preferentemente, ambas de las fracciones en las posiciones 5 y 7 del anillo aromático son hidrógeno y ambos de los grupos en las posiciones 6 y 8 son flúor.

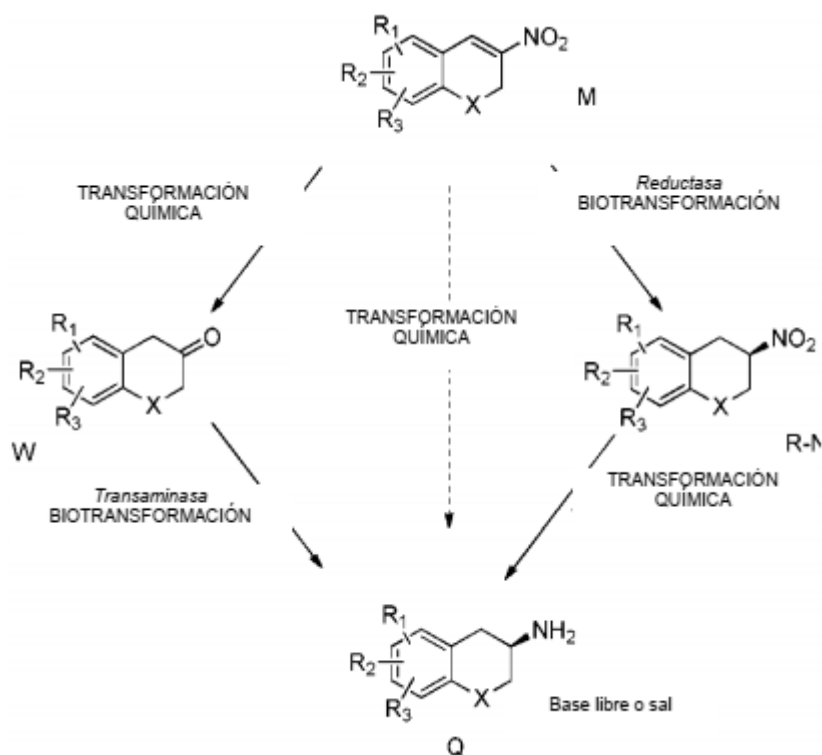
- 15 El procedimiento es llevado a cabo adecuadamente en presencia de un disolvente, una base y anhídrido ftálico. La base es adecuadamente dibutilamina y el disolvente es adecuadamente tolueno.

- 20 El compuesto de la fórmula R puede ser preparado por un cualquier procedimiento conocido. Tales procedimientos son desvelados en el documento WO2009/064210 y en Beliaev *et al.*, Org. Process Res. Dev., 2012, 16 (4), pp 704–709. Por ejemplo, el compuesto R puede ser preparado por reacción de un compuesto de la fórmula IV con un agente de formilación tal como hexametilentetramina y un ácido tal como ácido acético.



Preferentemente, el compuesto RA (3,5-difluoro-2-hidroxibenzaldehído) es preparado por reacción de 2,4-difluorofenol con hexametilentetramina y ácido trifluoroacético.

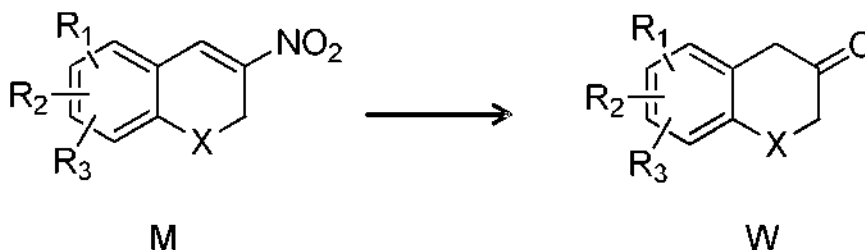
- 25 Los compuestos de la fórmula M y N descritos en la presente memoria y preparados por los procedimientos descritos en la presente memoria pueden ser usados en uno cualquiera de los siguientes procedimientos, algunos de los cuales forman los aspectos de la presente invención.



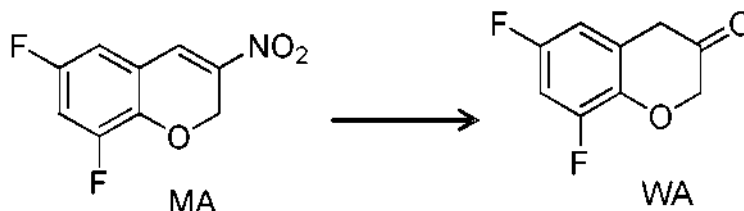
en los que: X, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son definidos con anterioridad.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado un procedimiento de preparación de un compuesto proquiral de cetona cromanona de la fórmula W, comprendiendo el procedimiento la conversión de un compuesto de la fórmula M en el compuesto de la fórmula W

5



en el que: X, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son definidos con anterioridad. Adecuadamente, la conversión comprende la reacción del compuesto M con hierro y ácido acético. Preferentemente, el compuesto de la fórmula WA es preparado por reacción de un compuesto de la fórmula MA, adecuadamente en presencia de hierro y ácido acético.

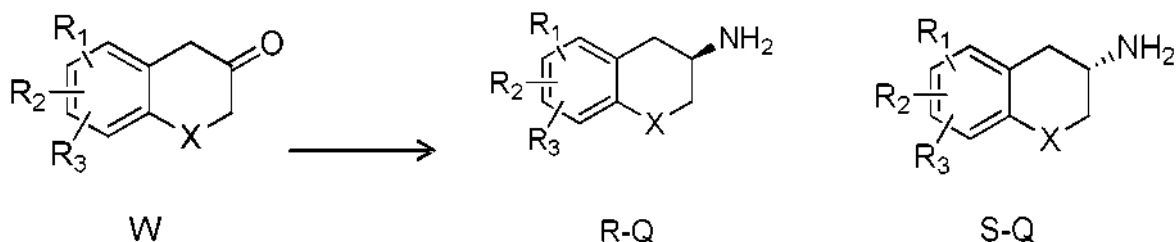


10

La presente invención también proporciona el uso de un proceso de biotransformación para obtener el enantiómero (R) o (S) del compuesto de la fórmula Q, o una sal de los mismos. Las sales adecuadas son descritas con anterioridad.

De esta manera, de acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado un procedimiento de preparación del enantiómero (R) (R-Q) o el enantiómero (S) (S-Q) de un compuesto de la fórmula Q, comprendiendo el procedimiento la biotransformación de un compuesto de la fórmula W a través de transaminación usando una enzima transaminasa y un donante del grupo amina.

15



La enzima es una transaminasa, que también puede ser mencionada como aminotransferasa. La enzima es adecuadamente un polipéptido que tiene actividad de transaminasa. Adecuadamente, la enzima es una enzima manipulada.

- 5 El donante del grupo amina puede ser seleccionado de isopropilamina, alanina, ácido 3-aminobutírico y metilbencilamina. Preferentemente, el donante del grupo amina es isopropilamina. El donante del grupo amina es proporcionado adecuadamente como una sal del mismo. Preferentemente, el donante amina es proporcionado como HCl de isopropilamina.

- 10 Preferentemente, la transaminación es enantioselectiva, y un enantiómero es proporcionado en exceso enantiomérico relativo al otro enantiómero. El exceso enantiomérico es calculado como  $[\text{enantiómero mayor} - \text{enantiómero menor}] / [\text{enantiómero mayor} + \text{enantiómero menor}]$ , como porcentaje. Preferentemente, un enantiómero es producido en al menos 50% de exceso enantiomérico. Más preferentemente, el enantiómero es producido en al menos 70% de exceso enantiomérico. Aún más preferentemente, el enantiómero es producido en al menos 80% de exceso enantiomérico. Mucho más preferentemente, el enantiómero es producido en al menos 90% de exceso enantiomérico.
- 15 Las transaminasas preferentes son aquellas que resultan en un exceso enantiomérico de al menos 50%. Las transaminasas más preferentes son aquellas que resultan en un exceso enantiomérico del enantiómero R del compuesto Q de al menos 50%.

Preferentemente, la reacción es llevada a cabo en condiciones adecuadas para producción el enantiómero deseado (es decir, el enantiómero mayor) en exceso enantiomérico comparado con el enantiómero menor.

- 20 La enzima puede ser seleccionada de una de las enzimas desveladas en el documento US 8.293.507.

Las siguientes enzimas pueden ser usadas como transaminasa en el procedimiento anterior:

Proveedor: Johnson Matthey

Nombre del kit: X-zyme

Código del proveedor: No disponible

- 25 Contenido del kit: 36 transaminasas y cofactor PLP

Proveedor: Prozomix

Nombre del kit: Transaminase Panel (kit de 200 enzimas)

Código del proveedor: PRO-TRANSP

Contenido del kit: 200 enzimas

- 30 Proveedor: Codexis

Nombre del kit: Kit de Cribado ATA Codex®

Código del proveedor: ATASK-200250

- 35 Contenido del kit: 24 transaminasas y cofactor PLP  
 Código de enzimas: ATA-007, ATA-013, ATA-025, ATA-113, ATA-117, ATA-200, ATA-217, ATA-234, ATA-237, ATA-238, ATA-251, ATA-254, ATA-256, ATA-260, ATA-301, ATA-303, ATA-412, ATA-415, ATA-P1-B04, ATA-P1-F03, ATA-P1-G05, ATA-P2-A01, ATA-P2-A07 y ATA-P2-B01

ATA-025 y ATA-P2-A07 producen el enantiómero (S) del compuesto QA en exceso enantiomérico. ATA-251 produce el enantiómero (R) del compuesto QA en exceso enantiomérico.

- 40 La transaminación es llevada a cabo adecuadamente en presencia de un cofactor para la enzima. El cofactor es preferentemente piridoxal-5'-fosfato (PLP).

La reacción de transaminación puede ser llevada a cabo en un disolvente seleccionado de dimetilsulfóxido (DMSO), acetonitrilo, heptano, tetrahidrofurano (THF), acetato de etilo, 2-propanol y éter t-butílico de metilo (MTBE).

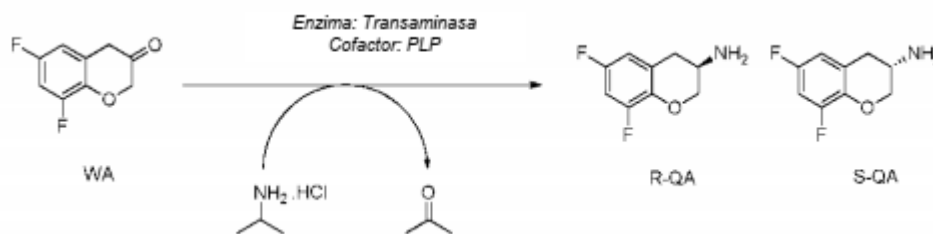
- 5 Ha sido hallado que el uso de DMSO es particularmente ventajoso cuando la transaminasa ATA-251 y el sustrato era el compuesto de la fórmula WA. La reacción de transaminación resultó en el enantiómero *R* del compuesto de la Fórmula QA, y el exceso enantiomérico del enantiómero *R* era de 90%.

La reacción de transaminación puede ser llevada a cabo en una solución de tampón. La solución de tampón puede ser una solución acuosa de HCl de trietanolamina. La concentración de HCl de trietanolamina en la solución de tampón puede ser de aproximadamente 200 mM. El pH de la solución puede ser ajustado con HCl para oscilar de aproximadamente 7 a aproximadamente 8, preferentemente aproximadamente 7,5.

- 10 El pH de la reacción de transaminasa es mantenido típicamente por encima de 7, preferentemente entre aproximadamente 7 y aproximadamente 9, más preferentemente entre aproximadamente 7 y aproximadamente 8,5.

La temperatura de la reacción de transaminación puede oscilar de aproximadamente 25°C a aproximadamente 50°C. Preferentemente, la temperatura oscila de aproximadamente 25°C a aproximadamente 40°C. Típicamente, la temperatura es de aproximadamente 30°C.

- 15 La reacción de transaminación preferente puede ser representada como:



Los reactivos/ condiciones preferentes para la transaminación anterior de WA son:

- Enzima: ATA-251
- Cofactor: PLP
- 20 • Donante amino: HCl de isopropilamina
- Tampón: HCl de trietanolamina acuosa
- Disolvente: DMSO

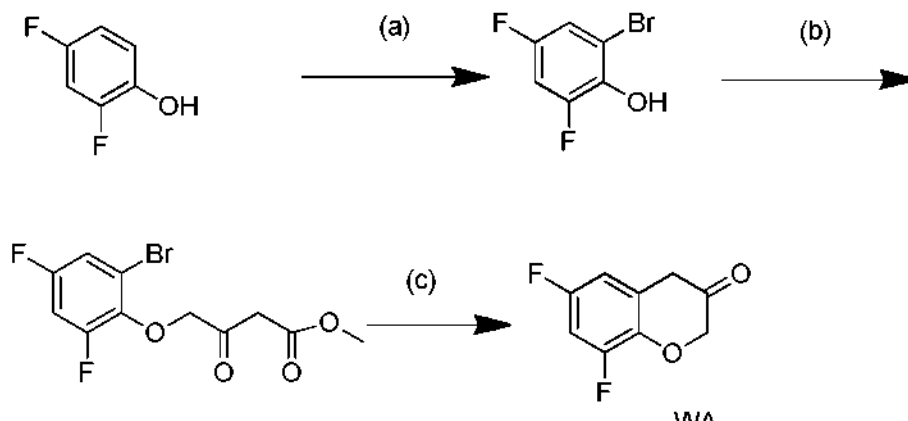
Típicamente, el proceso de transaminación típicamente comprende las siguientes etapas:

- (a) preparación de la solución de tampón (Solución 1):
- 25 (b) preparación de la solución donante del grupo amina (Solución 2):
- (c) preparación de la solución de cofactor/ tampón (Solución 3)
- (d) adición de Solución 3 a la enzima (Solución 4)
- (e) adición de Solución 2 a la Solución 4 (Solución 5)
- (f) adición de sustrato a la Solución 5 (Solución 6)
- 30 (g) adición de Solución 1 a la Solución 6 (Solución 7)
- (h) adición de disolvente a la Solución 7
- (i) tras la finalización de la reacción, adición de disolvente orgánico tal como acetato de etilo
- (j) aislamiento del producto.

- 35 El compuesto de la fórmula W puede ser preparado usando un procedimiento desvelado en la presente memoria a partir del compuesto nitro cromeno M.



El compuesto de la fórmula WA puede ser preparado usando un procedimiento que comprende bromación de 2,4-difluorofenol para dar bromofenol, alquilación de bromofenol con butanoato de 4-cloro-3-oxo para dar cetona seguido por la ciclación y descarboxilación para producir el compuesto WA.

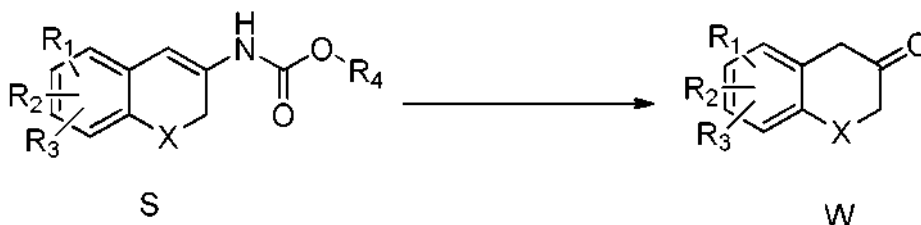


5 Los reactivos y condiciones adecuados son:

- a) Br<sub>2</sub>, agua, 0–5°C, 2 horas;
- b) 4-cloro-3-oxobutanoato, KOH, DMSO, temperatura ambiente,
- c) CuI, DMEDA, base, calentando en disolvente orgánico seguido por 20% de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a reflujo.

10

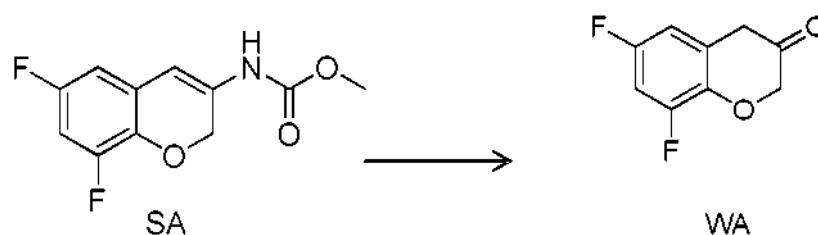
El compuesto de la fórmula W también puede ser preparado a partir del carbamato de eno correspondiente de la fórmula S, en el que el procedimiento comprende la reacción del compuesto de la fórmula S en presencia de HCl y metanol. Otros ácidos y disolventes pueden ser usados: por ejemplo, ácido trifluoroacético o ácido sulfúrico pueden ser usados en su lugar.



15

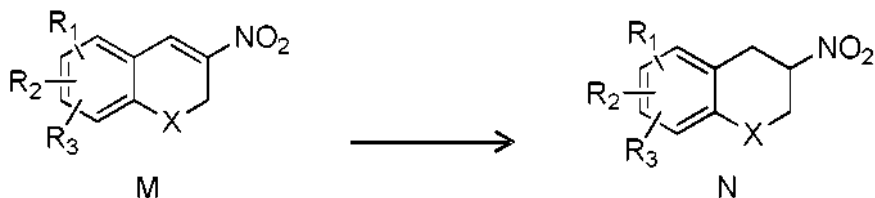
en el que: X, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son como definidos con anterioridad, y R<sub>4</sub> es alquilo o arilo, en el que: el término alquilo significa cadenas de hidrocarburo, rectas o ramificadas, que contienen de uno a seis átomos de carbono, opcionalmente sustituidos por grupos arilo, alcoxi, halógeno, alcocarbonilo o hidroxicarbonilo; el término arilo significa un grupo fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido por grupo alquilo, halógeno o nitro; y el término halógeno significa flúor, cloro, bromo o yodo. De manera adecuada, R<sub>4</sub> es alquilo C<sub>1</sub> a C<sub>4</sub> o bencilo. Opcionalmente, R<sub>4</sub> es metilo, etilo o t-butilo. Preferentemente, R<sub>4</sub> es metilo. Con máxima preferencia, la conversión comprende:

20



En la presente memoria es divulgado un procedimiento de preparación de un compuesto de la fórmula Q, comprendiendo el procedimiento convertir un compuesto de la fórmula M en el compuesto de la fórmula Q. De este

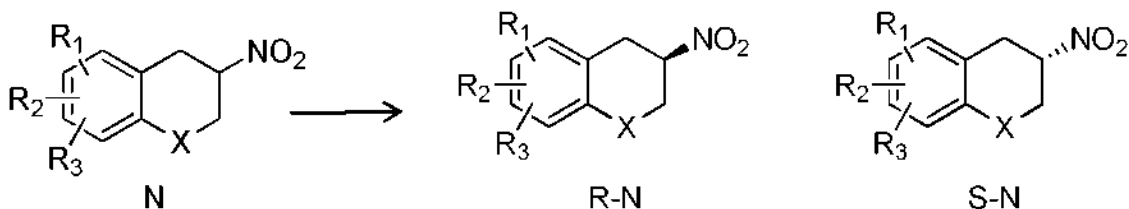
modo, la invención proporciona un procedimiento de preparación de un compuesto nitro cromano de la fórmula N, comprendiendo el procedimiento la reacción de un compuesto nitro cromeno de la fórmula M con un agente reductor adecuado.



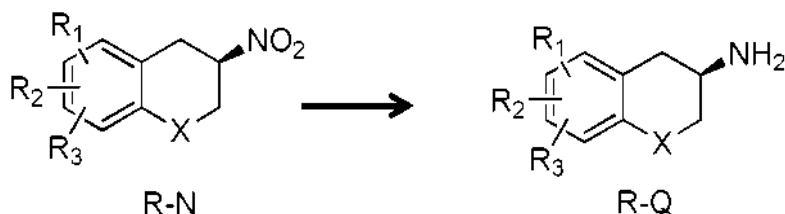
5 Preferentemente, la conversión comprende obtener un compuesto de la fórmula NA a partir de un compuesto de la fórmula MA. Preferentemente, el agente reductor es borohidruro de sodio.

La reacción puede ser llevada a cabo en un disolvente, que es adecuadamente una mezcla de cloroformo e isopropanol.

10 El compuesto de la fórmula N puede ser resuelto entonces usando una técnica adecuada para preparar el enantiómero (*R*) (R-N) o el enantiómero (*S*) (S-N) del compuesto de la fórmula N.

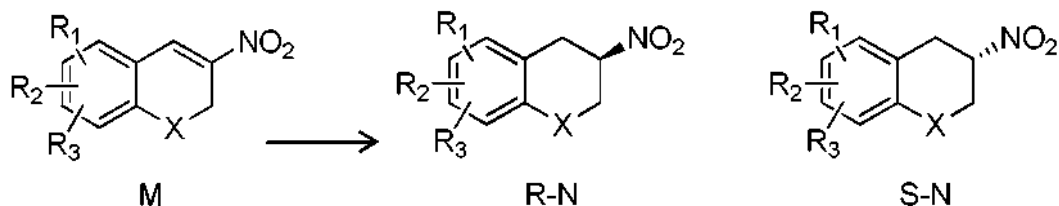


15 El enantiómero resuelto del compuesto de la fórmula N puede ser convertido en el enantiómero correspondiente del compuesto de la fórmula Q, o una sal del mismo, por técnicas adecuadas de hidrogenación. Preferentemente, el enantiómero (*R*) del compuesto N es preparado, y luego es convertido en el enantiómero (*R*) del compuesto Q. El compuesto de la fórmula R-Q puede ser preparado en forma de sal, por ejemplo como la sal de HCl del mismo.



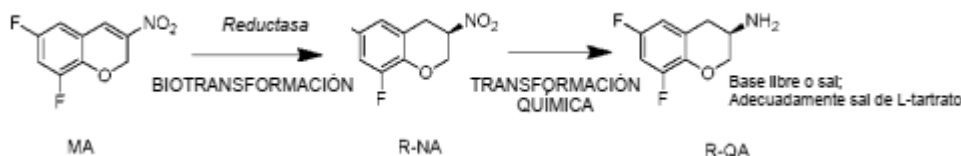
20 Preferentemente, la hidrogenación implica obtener un compuesto de la fórmula R-QA a partir de un compuesto de la fórmula R-NA. La hidrogenación puede implicar el uso de hidrato de hidrazina y Raney-Níquel. Otras condiciones de hidrogenación adecuadas incluyen: uso de Raney-Níquel bajo una atmósfera de hidrógeno; o uso de un catalizador tal como Paladio (típicamente soportado sobre carbón activado) bajo una atmósfera de hidrógeno, o en presencia de un compuesto donante de hidrógeno tal como ácido fórmico, formiato de amonio o hidrato de hidrazina.

25 En la presente memoria es divulgado un procedimiento de preparación del enantiómero (*R*) (R-Q) o el enantiómero (*S*) (S-Q) del compuesto de la fórmula Q o una sal del mismo, comprendiendo el procedimiento una biotransformación del compuesto nitro cromeno M en el enantiómero (*R*) (R-N) o el enantiómero (*S*) (S-N) de un compuesto de la fórmula N en presencia de una enzima reductasa, y convertir el enantiómero (*R*) (R-N) o el enantiómero (*S*) (S-N) del compuesto de la fórmula N en el correspondiente enantiómero R(R-Q) o el enantiómero (*S*) (S-Q) del compuesto de la fórmula Q o la sal del mismo.



El enantiómero *R* o *S* del compuesto de la fórmula N puede ser convertido en el enantiómero (*R*)– o (*S*) correspondiente del compuesto de la fórmula Q, o una sal del mismo, por técnicas adecuadas de hidrogenación. El enantiómero (*R*) o (*S*) del compuesto de la fórmula R puede ser convertido en el enantiómero (*R*)– o (*S*) correspondiente del compuesto de la fórmula Q en forma de base libre que es convertida sustancialmente o una sal del mismo. Preferentemente, el compuesto de la fórmula M es convertido en el enantiómero (*R*) del compuesto de la fórmula N, que luego es convertido en el enantiómero (*R*) del compuesto de la fórmula Q, o una sal del mismo; preferentemente, la sal es una sal de HCl. Más preferentemente, el compuesto de la fórmula MA es convertido en el enantiómero (*R*) del compuesto de la fórmula NA, que luego es convertido en el enantiómero (*R*) del compuesto de la fórmula QA, o una sal del mismo; preferentemente, la sal es una sal de HCl.

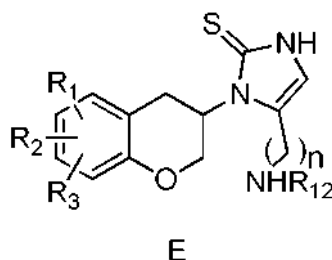
10 Adecuadamente, el procedimiento comprende las siguientes etapas:



La hidrogenación del cromano nitro en el cromano amina puede implicar el uso de hidrato de hidrazina y Raney-Níquel. Otras condiciones de hidrogenación adecuadas incluyen: uso de Raney-Níquel bajo una atmósfera de hidrógeno; o uso de un catalizador tal como Paladio (típicamente soportado sobre carbón activado) bajo una atmósfera de hidrógeno, o en presencia de un compuesto donante de hidrógeno tal como ácido fórmico, formiato de amonio o hidrato de hidrazina.

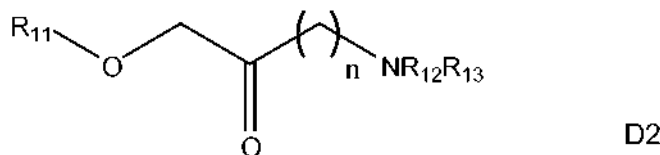
15

El enantiómero *R* o *S* del compuesto de la fórmula Q, o una sal del mismo, puede ser convertido en el enantiómero (*R*)– o (*S*) respectivo de un compuesto de la fórmula E, o una sal del mismo

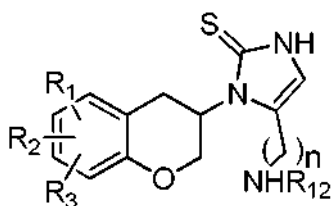


20 en el que  $R_1$ ,  $R_2$ , y  $R_3$  tienen los mismos significados que fueron asignados anteriormente;  $R_{12}$  significa hidrógeno, grupo alquilo o alquilarilo; y  $n$  es 1, 2 o 3. Preferentemente E es (*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona o clorhidrato de (*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona.

25 En una realización, el enantiómero (*R*) o *S* del compuesto de la fórmula Q es reaccionado con el compuesto de la fórmula D2

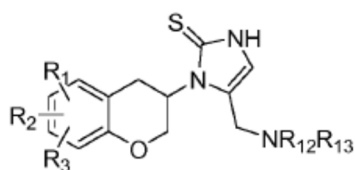


para producir el enantiómero (*R*) o *S* respectivo de un compuesto de la fórmula E o una sal del mismo

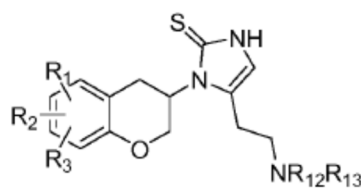


E

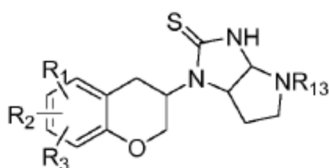
- 5 en el que  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  tienen los mismos significados anteriores,  $n$  significa 1, 2 o 3;  $R_{12}$  significa hidrógeno, grupo alquilo o alquilarilo,  $R_{11}$  significa un grupo de protección de hidroxilos y  $R_{13}$  significa un grupo de protección de amino, o  $R_{11}$  es definido como anteriormente pero  $R_{12}$  y  $R_{13}$  tomados juntos con un grupo ftalimido; con una sal de tiocianato en presencia de un ácido orgánico en un disolvente sustancialmente inerte, seguido de desprotección subsiguiente de los productos intermedios F a I:



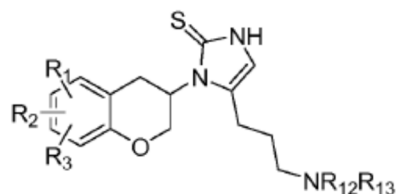
F



G



H



I

Preferentemente, la sal de tiocianato hidrosoluble es una sal de tiocianato de metal alcalino o una sal de tiocianato de tetraalquilamonio. Preferentemente el disolvente es un disolvente orgánico.

- 10 En una realización,  $n$  es 2 o 3. Dos de  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  son flúor. Opcionalmente, el compuesto de la fórmula E es:

(S)-5-(2-aminoetil)-1-(5,7-difluoro-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

(R)-5-(2-aminoetil)-1-(6,7-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

(R)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

(S)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

- 15 (R)-5-aminometil-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

(R)-5-(3-aminopropil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

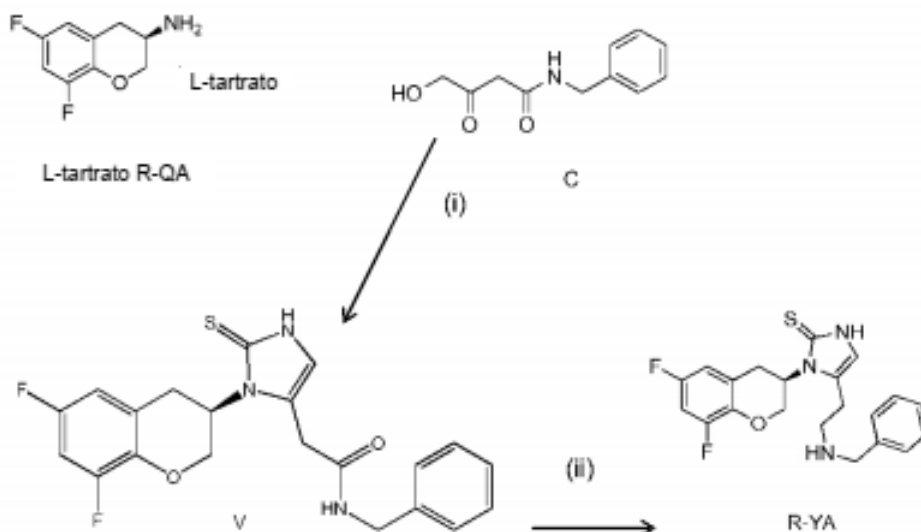
(S)-5-(3-aminopropil)-1-(5,7-difluoro-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona; o,

(R)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-5-(2-metilaminoetil)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona.

- 20 Será apreciado que los grupos  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  en los compuestos de M, N y Q pueden ser seleccionados de modo tal que se correspondan con los grupos  $R_1$ ,  $R_2$  y  $R_3$  sobre el compuesto E de interés. Por ejemplo, si el compuesto E de interés es (R)-5-(2-aminoetil)-1-(6-hidroxicroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona, el compuesto N será (R)-6-hidroxi-3-nitro cromano, el compuesto M será 6-hidroxi-3-nitro cromeno y etc. Los compuestos M, N y Q correspondientes a los compuestos de la fórmula E enumerados anteriormente definen aspectos adicionales de la presente invención.

- 25 El compuesto de la fórmula E también puede ser una sal de:





La reacción de los compuestos C y R-QA puede ser llevada a cabo en presencia de un tiocianato de metal alcalino, preferentemente tiocianato de potasio (KSCN), y un ácido adecuado, preferentemente ácido acético.

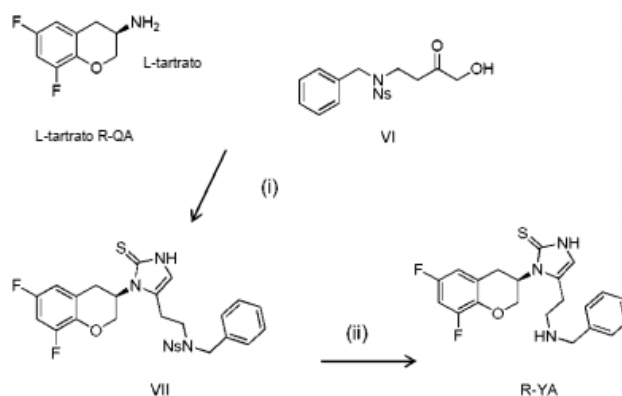
- 5 La reducción del compuesto V en el compuesto R-YA puede ser llevada a cabo usando un agente reductor que comprende un complejo  $\text{NaBH}_4\text{-BF}_3$  tal como  $\text{NaBH}_4\text{-BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ ,  $\text{NaBH}_4\text{-BF}_3 \cdot \text{THF}$ , preferentemente el complejo puede ser  $\text{NaBH}_4\text{-BF}_3 \cdot \text{THF}$ .

Los reactivos preferentes para el procedimiento son:

- (i) KSCN, AcOH/IPA
- (ii)  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{BF}_3 \cdot \text{THF}$ , THF luego IPA

- 10 El compuesto de la fórmula R-YA o una sal del mismo también pueden ser preparados por reacción de un compuesto de la fórmula R-QA preparado por cualquier procedimiento desvelado en la presente memoria con un compuesto de la fórmula VI para obtener un compuesto de la fórmula VII, y el compuesto de la fórmula VII es desprotegido para obtener el compuesto de la fórmula R-YA. Opcionalmente, el compuesto de la fórmula R-YA es convertido en una sal del mismo.

15



en el que Ns significa o-nitrofenilsulfonilo.

Preferentemente, la etapa de desprotección comprende tratar un compuesto de la fórmula VII con ácido tioglicólico o cisteína en un disolvente adecuado, en presencia de una base, preferentemente LiOH o KOH.

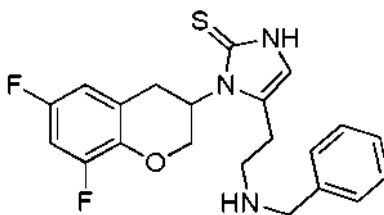
- 20 Opcionalmente, el compuesto R-YA es aislado de la etapa de desprotección y purificado. Preferentemente, la purificación es realizada: a través de un procedimiento de dos etapas que comprende (i) formación de una sal de HCl de un compuesto de la fórmula RY y (ii) cristalización de la sal de HCl así formada a partir de un disolvente adecuado,

preferentemente tolueno o isopropanol; o a través de una reemulsión en 2-butanona.

Preferentemente, la reacción de los compuestos VI y R-QA es llevada a cabo en presencia de un tiocianato de metal alcalino, preferentemente tiocianato de potasio (KSCN), y un ácido adecuado, preferentemente ácido acético.

5 Los compuestos de la fórmula C y VI pueden ser preparados por un procedimiento como el desvelado en el documento WO2013/002660.

También son desvelados en la presente memoria las siguientes vías de preparación de un compuesto de la fórmula YA, el enantiómero (*R*) o (*S*) del mismo o una mezcla del enantiómero (*R*) y (*S*), o una sal del mismo. Más específicamente, son proporcionadas numerosas vías ventajosas de preparación de compuestos de la fórmula R-YA o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

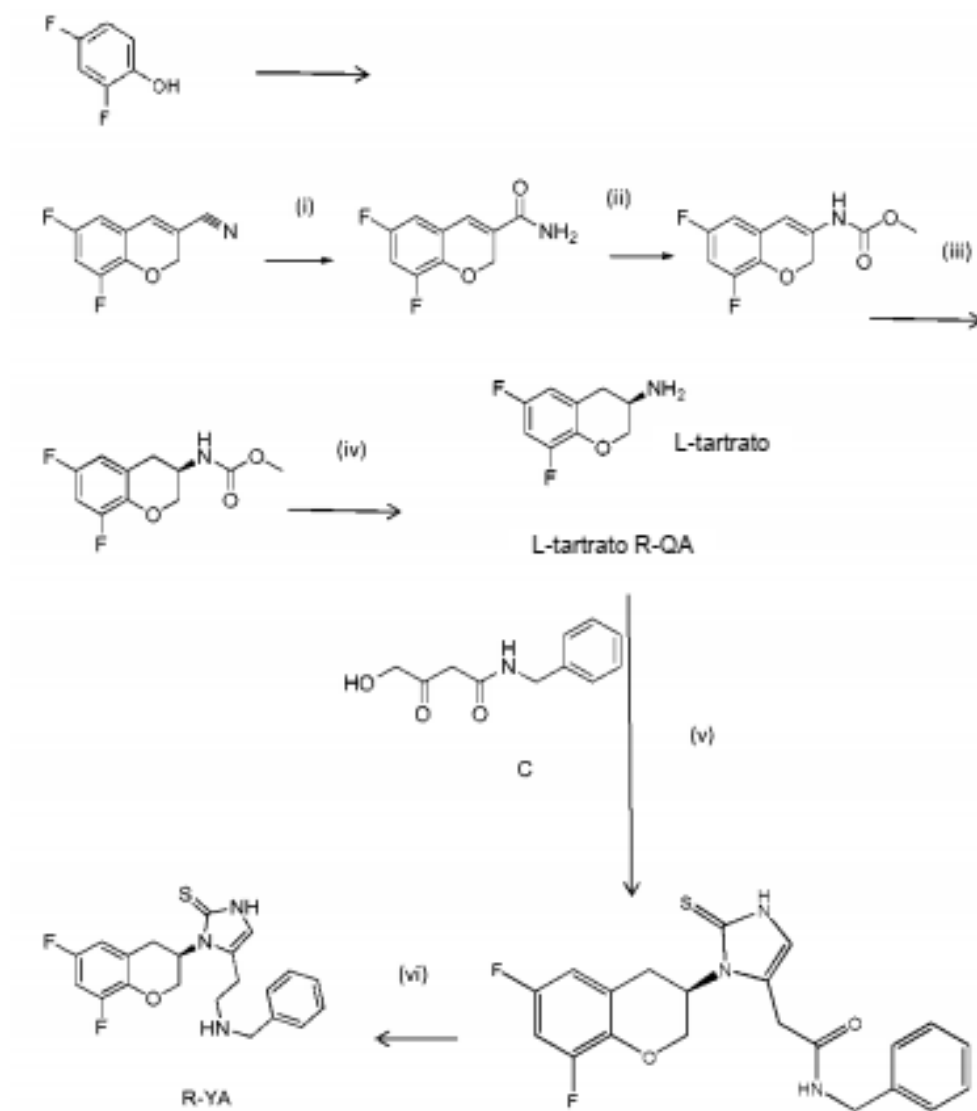


10

YA

Preferentemente, los procedimientos son para preparación del enantiómero (*R*) del compuesto YA (R-YA) o una sal del mismo. Más preferentemente, el producto es indistintamente la forma de base libre del compuesto de la fórmula YA o la sal de HCl del enantiómero (*R*) del compuesto YA.

En la presente memoria es divulgado un procedimiento que comprende las siguientes etapas:



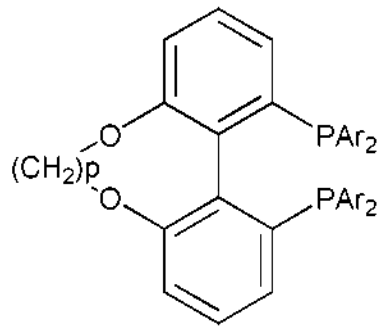
La vía de 2,4-difluorofenol puede ser como la descrita en el documento WO2009/064210.

Preferentemente, los reactivos y las condiciones son:

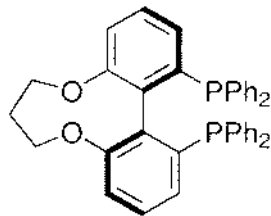
- 5 (i)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , ácido acético  
(ii) NaOCl, MeOH/agua  
(iii) catalizador a base de Ru,  $\text{H}_2$ , 3,0 MPa, MeOH  
(iv) KOH acuoso, MeOH, ácido L-tartárico  
(v) KSCN, AcOH/IPA
- 10 (vi)  $\text{NaBH}_4$ , complejo  $\text{BF}_3 \cdot \text{THF}$ , THF luego IPA

En la etapa (iii), el catalizador a base de Ru puede comprender un ligando bifosfino quiral. El ligando bifosfino quiral puede ser (*R*)-ToIBINAP, (*S*)-ToIBINAP, (*R*)-BINAP o (*S*)-BINAP. Alternativamente, el ligando puede ser un ligando quiral que tiene la siguiente fórmula, en la que p es de 1 a 6 y Ar significa grupo arilo.



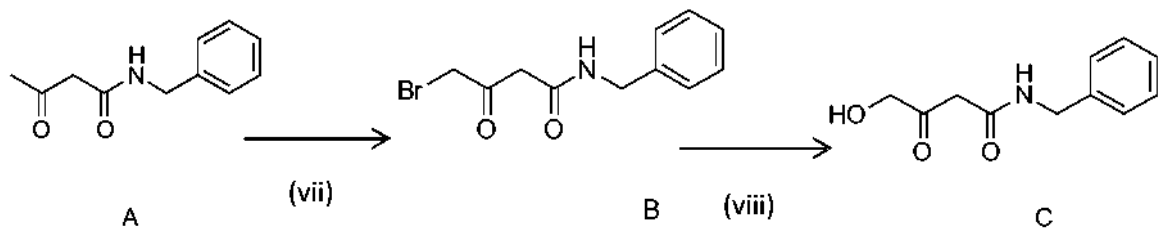


Dichos ligandos y procedimientos para su producción son descritos en el documento EP1214328A. Dichos ligandos son de una serie de ligandos conocidos bajo el nombre "TunePhos". El ligando TunePhos preferente es el ligando (*R*)-C3-TunePhos que tiene la fórmula:



5

El compuesto de la fórmula C es preparado de acuerdo con el siguiente procedimiento:



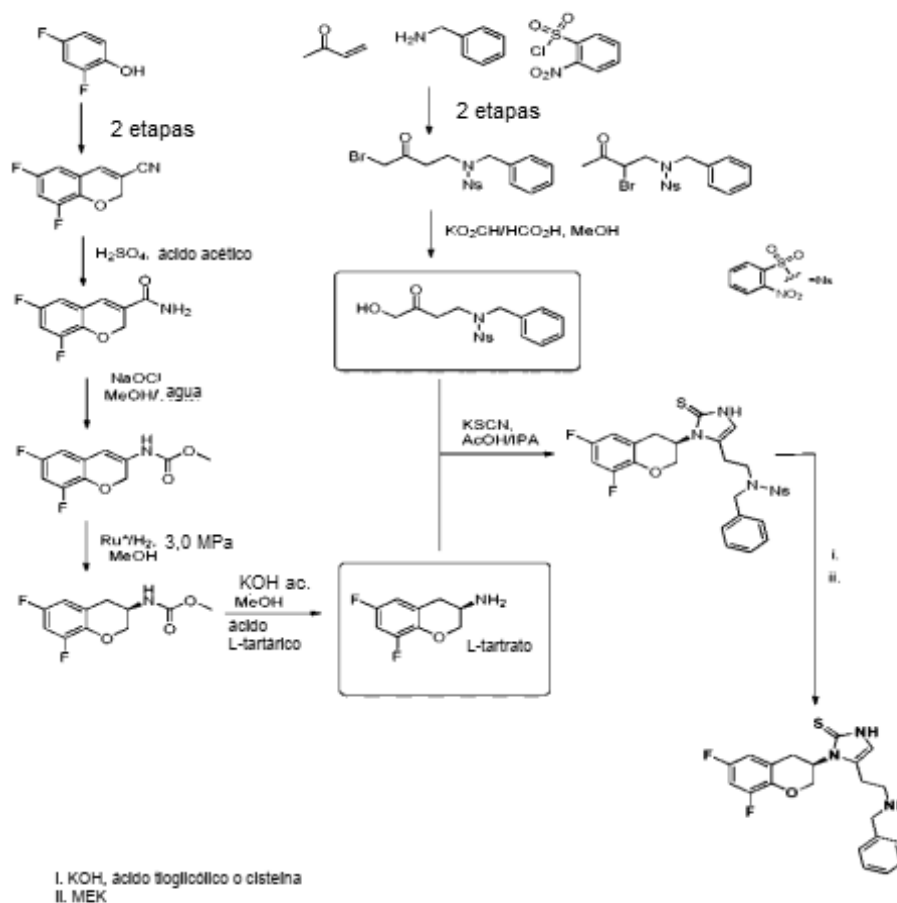
Preferentemente, los reactivos y las condiciones son:

(vii) Br<sub>2</sub>, DCM

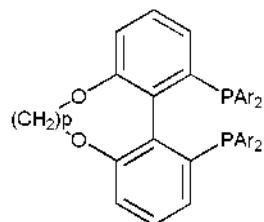
(viii) KO<sub>2</sub>CH, MeOH

10

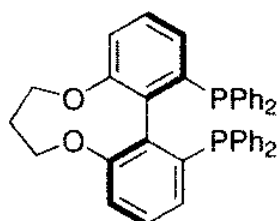
En la presente memoria es divulgado un procedimiento que comprende las siguientes etapas:



5 En la etapa (iii), el catalizador a base de Ru puede comprender un ligando bisfosfino quiral. El ligando bifosfino quiral puede ser (R)-ToIBINAP, (S)-ToIBINAP, (R)-BINAP o (S)-BINAP. Alternativamente, el ligando puede ser un ligando quiral que tiene la siguiente fórmula, en el que p es de 1 a 6 y Ar significa grupo arilo.



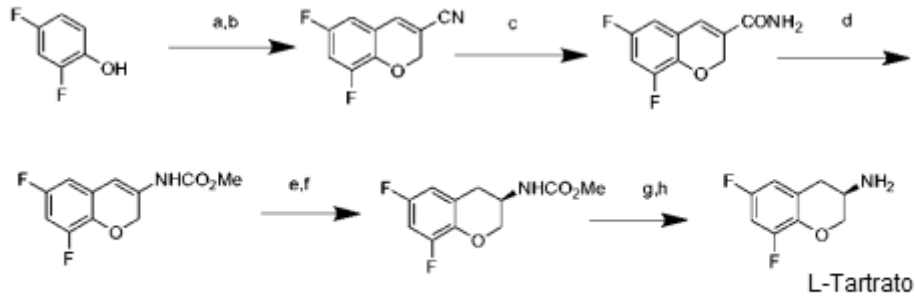
Dichos ligandos y procedimientos para su producción son descritos en el documento EP1214328A. Dichos ligandos son de una serie de ligandos conocidos bajo el nombre "TunePhos". El ligando TunePhos preferente es el ligando (R)-C3-TunePhos que tiene la fórmula:



De acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado un compuesto de la fórmula N preparado por un proceso desvelado en la presente memoria. Preferentemente, el compuesto tiene la fórmula NA. Más preferentemente, el compuesto tiene la fórmula R-NA.

5 Es desvelado en la presente memoria la siguiente vía de síntesis de 2 partes a partir del material de partida 2,4-difluorofenol a clorhidrato de (*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-iona:

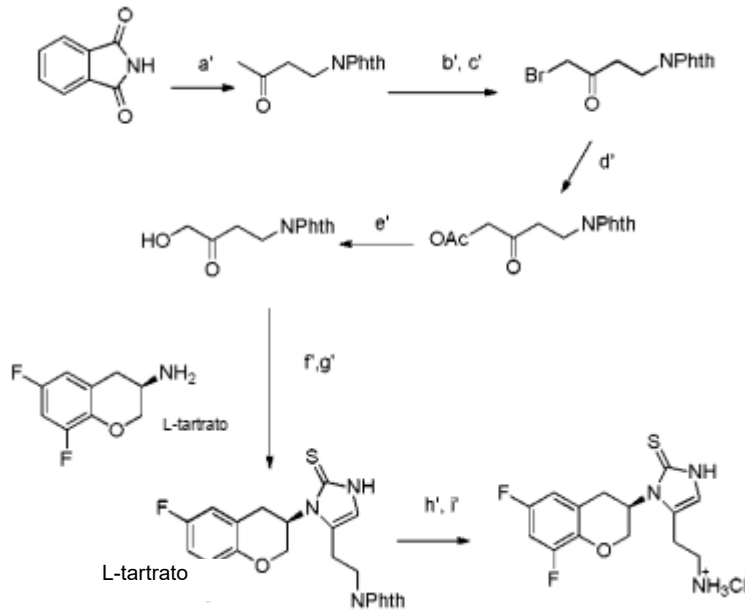
Parte (1)



Reactivos y condiciones preferentes

- 10 a) HMTA, CF<sub>3</sub>COOH, 115°C, 18 horas
- b) CH<sub>2</sub>CHCN, DABCO, DMF, agua, 70°C, 16 horas
- c) H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, AcOH, 100°C, 1 hora
- d) NaClO, NaOH, MeOH, 25°C, 24 horas
- e) (*R*)-C3-TunePhosRu(acac)<sub>2</sub> S/C 3000, 3,0 MPa H<sub>2</sub>, MeOH, 80°C, 20 horas
- f) Agua, 2-propanol, reflujo a 20°C
- 15 g) 40% KOH, MeOH, reflujo, 24 horas
- h) ácido L-tartárico, etanol, agua, TA, 1 hora

Parte (2)

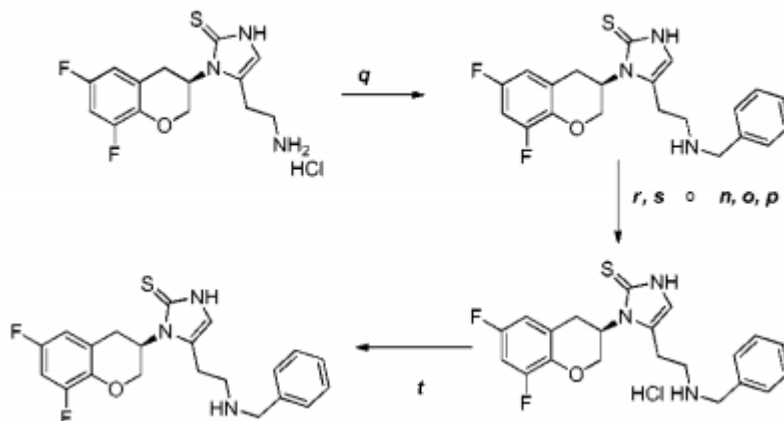


Reactivos y condiciones preferentes

- a') cetona vinílica de metilo, t-BuONa, EtOAc, EtOH, 40–50°C, 2–3 horas
- 5 b') Br<sub>2</sub>, MeOH, 20–25°C, 5 horas
- c') agua, reflujo, 1 hora
- d') KOH, AcOH, reflujo, 1 hora
- e') HCl, agua, 2-propanol, 75°C, 4 horas
- f') KSCN, AcOH, 100°C, 2–4 horas
- 10 g') NaHCO<sub>3</sub>, agua, EtOH
- h') NaBH<sub>4</sub>, 2-propanol, THF, agua, 20–25°C, 16 horas i') HCl, 2-propanol, agua, reflujo, 1–2 horas

El clorhidrato de (R)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona puede ser usado luego para preparar (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-tiona de la siguiente manera.

15



Condiciones de reacción/reactivos preferentes:

q)  $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ , PhCHO, IPA;

t) NaOH, MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$

5 Cualquiera de r) y s):

r) HCl ac.;

s) MeOH/Tolueno;

O n), o) y p):

n) HCl ac.;

10 o) MeOH, tolueno;

p) IPA.

15 De acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado un compuesto de la fórmula MA preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado un compuesto de la fórmula Q o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria. Preferentemente, el compuesto tiene la fórmula QA. Más preferentemente, el compuesto tiene la fórmula R-QA. Mucho más preferentemente, es proporcionada la sal de L-tartrato del compuesto de la fórmula Q-QA preparada por un procedimiento desvelado en la presente memoria.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, es proporcionado un compuesto de la fórmula Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria. Preferentemente, el compuesto es (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona o clorhidrato de (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona. Más preferentemente, el compuesto es (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona.

Es divulgada en la presente memoria una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria en combinación con un portador farmacéuticamente efectivo.

30 Es desvelado en la presente memoria un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria para uso en la inhibición de dopamina-p-hidroxilasa.

Es desvelado en la presente memoria un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria para uso en el tratamiento de trastornos cardiovasculares, hipertensión o insuficiencia cardíaca crónica.

35 Es desvelado en la presente memoria el uso de un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria en la manufactura de un medicamento para usar en la inhibición de dopamina-p-hidroxilasa.

Es desvelado en la presente memoria el uso de un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de trastornos cardiovasculares o insuficiencia cardíaca crónica.

40 Es desvelado en la presente memoria un procedimiento de tratamiento de trastornos cardiovasculares que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria a un paciente necesitado de dicho tratamiento.

45 Es desvelado en la presente memoria un procedimiento de tratamiento de la hipertensión que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria a un paciente necesitado de dicho tratamiento.

Es desvelado en la presente memoria un procedimiento de tratamiento de insuficiencia cardiaca crónica o congestiva que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria a un paciente necesitado de dicho tratamiento.

- 5 Es desvelado en la presente memoria un procedimiento de tratamiento de una o más de las siguientes indicaciones: angina, arritmias y trastornos circulatorios tal como el fenómeno de Raynaud, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la fórmula E o Y o una sal del mismo preparado por un procedimiento desvelado en la presente memoria a un paciente necesitado de dicho tratamiento.

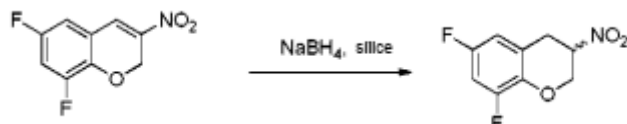


5 solución fue precipitada cuando la mayor parte del metanol fue retirado. Fue añadido más metanol y más sólido triturado, luego algunas gotas de agua fueron añadidas para aumentar la precipitación del producto. La emulsión marrón fue agitada durante 30 minutos y filtrada. El sólido marrón fue lavado con metanol/agua (1:9, 5 ml) y secado en un horno de vacío a 40°C durante 12 hs. 6,8-difluoro-3-nitro-2H-cromeno (4,9 g, 22,99 mmol,) fue obtenido como sólido marrón en un rendimiento del 36,3%.

La HPLC mostró una pureza de 98% y <sup>1</sup>H-RMN confirmó la estructura y la pureza de aproximadamente 95%.

#### **Ejemplo 4 (que no forma parte de la invención reivindicada)**

Reducción de nitro cromeno en nitro-alcano (mezcla racémica)



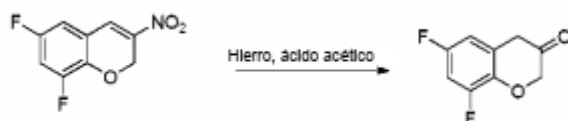
10 A una suspensión de 6,8-difluoro-3-nitro-2H-cromeno (213 mg, 0,999 mmol) y sílice (0,8 g, 0,999 mmol) en una mezcla de CHCl<sub>3</sub> (10 ml) e IPA (3,4 ml) a 0°C fue añadido borohidruro de sodio en porciones (95 mg, 2,498 mmol). La mezcla resultante fue agitada a 0°C durante 45 minutos. La conversión de la reacción fue controlada por HPLC. 1 ml de ácido acético fue añadido a 0°C y la mezcla resultante fue agitada durante 30 minutos a temperatura ambiente. La emulsión fue filtrada y el sílice fue lavado con DCM. El filtrado fue diluido con acetato de etilo y agua y el sistema bifásico fue separado. La fase acuosa fue extraída nuevamente con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas fueron lavadas con salmuera, secadas sobre MgSO<sub>4</sub>, filtradas y concentradas bajo presión reducida.

6,8-difluoro-3-nitrocromano (196 mg, 0,911 mmol, 91 % de rendimiento) fue obtenido como un aceite amarillo pálido.

#### **Ejemplo 5**

Preparación de 6,8-difluorocroman-3-ona a partir de nitro cromeno

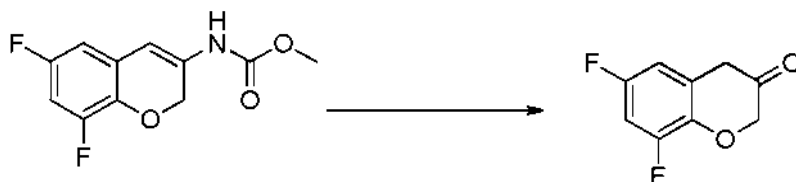
20



25 Una solución de 6,8-difluoro-3-nitro-2H-cromeno (100 mg, 0,469 mmol) en ácido acético (0,5 ml) es añadida a una emulsión agitada de hierro (262 mg, 4,69 mmol) en ácido acético (1 ml) a 60°C. La mezcla de reacción es agitada a 60°C durante 2 horas, luego fue dejada enfriar hasta la temperatura ambiente y agitada hasta el día siguiente. La mezcla de la reacción es vertida sobre hielo-agua (30 ml) y filtrada a través de Celite. El sólido fue lavado con diclorometano (DCM) (50 ml). La porción orgánica es separada y lavada con agua (2 x 30 ml) y salmuera (30 ml), secada sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrada y concentrada al vacío para dar un aceite marrón. 6,8-difluorocroman-3-ona (75 mg, 0,407 mmol, 87 % de rendimiento) fue obtenido como un aceite marrón pálido.

#### **Ejemplo 6**

30 Preparación de 6,8-difluorocroman-3-ona a partir de 6,8-difluoro-2H-cromen-3-il-carbamato de metilo



Metanol (1000 ml) fue añadido a una emulsión de 6,8-difluoro-2H-cromen-3-il-carbamato de metilo (250 g, 1,037 mol) en cloruro de hidrógeno 6N (2000 ml, 12 mol) a temperatura ambiente. La mezcla resultante fue calentada a reflujo y agitada durante 2 horas. La reacción fue monitorizada por HPLC.

35 La reacción no estaba completa pero fue detenida para evitar la degradación del producto. La solución amarilla fue enfriada hasta temperatura ambiente. Una emulsión (dos tipos de sólidos) fue observada y diluida con éter dietílico (300 ml). La emulsión resultante fue agitada a 5°C durante 1 hora y luego fue filtrada. El sólido amarillo fue lavado con

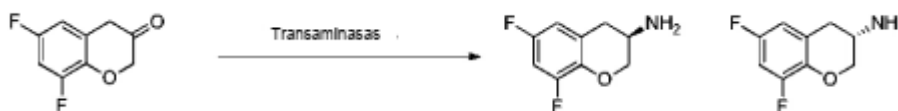


agua. El sólido amarillo húmedo resultante fue suspendido en éter dietílico (400 ml) y fue añadido éter de petróleo (PE) (400 ml). El sólido amarillo leve fue agitado a temperatura ambiente hasta el día siguiente, filtrado y lavado con PE (300 ml), secado en un horno de vacío a 30°C durante 4 horas. La muestra húmeda fue controlada por RMN. No fue detectado material de partida. Fue obtenido un sólido amarillo pálido (72,5 g, sólido 1). Las soluciones madre fueron concentradas hasta la sequedad. Un sólido amarillo fue obtenido, suspendido en éter dietílico y PE. La emulsión luego fue agitada durante 4 horas, filtrada, lavada con PE. Fue obtenido un sólido amarillo oscuro (4,5 g, sólido 2). El sólido 1 (2 g) fue diluido en DCM y fue lavado con agua (pH = 6). Luego, la fase orgánica fue secada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada y concentrada a sequedad. Fue obtenido un sólido amarillo pálido cristalino (1,9 g, sólido 3). La RMN mostró la misma pureza para el sólido 3 que para el sólido 1. Luego, la parte remanente del sólido 1 fue diluida en DCM. La fase orgánica resultante fue lavada, secada sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrada y luego concentrada hasta la sequedad. Fue obtenido un sólido amarillo leve cristalino (68,5 g, sólido 4). La RMN confirmó material de alta calidad.

Pérdida por secado (LOD): 1,03%.

### **Ejemplo 7**

Biotransformación: Transaminasas



Las transaminasas Codexis ATA-025, ATA-251 y ATA-P2-A07 reconocieron 6,8-difluorocromán-3-ona como el sustrato y produjeron la 6,8-difluorocromán-3-amina correspondiente.

### **Protocolo experimental**

*Preparación de solución de tampón de trietanolamina 200 mM (Solución 1):*

Disolver 14,9 g de trietanolamina en 500 ml de agua desmineralizada. Ajustar el pH a 7,5 mediante la adición de HCl concentrado.

*Preparación de solución de clorhidrato de isopropilamina 2,5M (Solución 2):*

Disolver 20,8 ml de HCl conc. en 40 ml. A 0°C, añadir isopropilamina (20,5 ml) gota a gota durante 1,5 horas y finalmente completar el volumen a 100 ml con agua desmineralizada. El pH resultante es 4.

*Preparación de solución de tampón de PLP (Solución 3, preparar en el día del experimento)* Disolver 4,8 mg de PLP en 20 ml de solución de trietanolamina

### **Protocolo general**

Pesar 5 mg de cada enzima en un vial

Añadir 500 ml de solución de PLP (Solución 3)

Añadir 400 ml de iPrNH<sub>2</sub>-HCl 2,5M (Solución 2)

Añadir 15 mg de cetona

Añadir 190 ml de tampón (Solución 1)

Añadir 20 ml de DMSO.

Agitar la mezcla hasta el día siguiente a 30°C.

Fueron añadidos 400 µl de acetato de metilo a todos los viales después de la reacción hasta el día siguiente. El sistema bifásico fue agitado durante 10 minutos y se dejó separar, y fue realizada TLC sobre la fase orgánica. Eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo 7:3 y DCM/MeOH 9:1.

### **Resultados**

ATA-025: Ningún material de inicio por TLC; (S)-6,8-difluorocromán-3-amina producida; HPLC quiral: 72,8% ee.

ATA-251: Ningún material de inicio por TLC; (R)-6,8-difluorocromán-3-amina producida; HPLC quiral: 50% ee.

ATA-P2-A07: Ningún material de inicio por TLC; (S)-6,8-difluorocroman-3-amina producida; HPLC quiral: 99,0% ee.

#### **Ejemplo 8: Estudio de solubilidad**

Fue determinada la solubilidad de (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-tiona no micronizada y micronizada en varios disolventes orgánicos.

5 La solubilidad fue evaluada de acuerdo con Ph. Eur. Capítulo 5.11 a temperatura ambiente.

Una comparación entre los resultados obtenidos antes y después de la micronización muestra que no hubo cambios significativos en el perfil de solubilidad.

Las siguientes descripciones son usadas para describir el grado de solubilidad:

Descripción	Partes aproximadas de disolvente para una parte de soluto
Muy soluble	menos que 1 parte
Libremente soluble	de 1 a 10 partes
Soluble	de 10 a 30 partes
Escasamente soluble	de 30 a 100 partes
Levemente soluble	de 100 a 1000 partes
Muy levemente soluble	de 1000 a 10.000 partes
Prácticamente insoluble	más o igual que 10.000 partes

10 La (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-tiona era soluble hasta cierto grado (principalmente o bien escasamente soluble, levemente soluble o muy levemente soluble) en la mayoría de los disolventes orgánicos polares analizados. La (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-tiona era soluble hasta cierto grado (o bien escasamente soluble, levemente soluble o muy levemente soluble) en la totalidad de los disolventes orgánicos apróticos polares analizados.

15

La descripción de las solubilidades de las partículas no micronizadas es mostrada a continuación:

<b>Disolvente</b>	<b>Descripción</b>
1,4-Dioxano	Levemente soluble
2-propanol	Insoluble
Etanol absoluto	Prácticamente insoluble
Acetona	Levemente soluble
Acetonitrilo	Muy levemente soluble
Cloroformo	Muy levemente soluble
Ciclohexano	Insoluble
Diclorometano	Levemente soluble
Dimetilformamida	Escasamente soluble
DMSO	Escasamente soluble
Acetato de metilo	Muy levemente soluble
Hexafluoroisopropanol	Escasamente soluble
Iso-octano (2,2,4-trimetilpentano)	Insoluble
Acetato de isopropilo	Muy levemente soluble
Metanol	Muy levemente soluble
Metanol o acetonitrilo acidificado con 0,1% ácido fórmico o TFA	Escasamente soluble
Metil etil cetona	Levemente soluble
N,N-metilpirrolidona	Escasamente soluble
Tetrahidrofurano	Escasamente soluble
Tolueno	Muy levemente soluble
Trifluoroetanol	Levemente soluble

La descripción de las solubilidades de las partículas micronizadas es mostrada a continuación:

Disolvente	Descripción
1,4-Dioxano	Muy levemente soluble
2-propanol	Insoluble
Etanol absoluto	Muy levemente soluble
Acetona	Levemente soluble
Acetonitrilo	Muy levemente soluble
Cloroformo	Levemente soluble
Ciclohexano	Insoluble
Diclorometano	Muy levemente soluble
Dimetilformamida	Escasamente soluble
DMSO	Levemente soluble
Acetato de metilo	Muy levemente soluble
Iso-octano (2,2,4-trimetilpentano)	Prácticamente insoluble
Metanol	Muy levemente soluble
Metanol o acetonitrilo acidificado con 0,1% ácido fórmico o TFA	Levemente soluble
Metil etil cetona	Levemente soluble
N,N-metilpirrolidona	Escasamente soluble
Tetrahidrofurano	Escasamente soluble

- 5 La solubilidad acuosa de *(R)*-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocromán-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona fue determinada por triplicado a 37°C. Fueron analizadas soluciones acuosas de HCl (pH 1,2, 2,0, 3,0), cloruro de potasio (pH 1,2, 2,0), ftalato ácido (pH 3,0), acetato (pH 4,5, 5,5), fosfato (pH 7,4) y ácido bórico (pH 9,0). Ha sido observado que la solubilidad de *(R)*-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocromán-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona (tanto no micronizada como micronizada) disminuye con el aumento del pH. La solubilidad máxima fue lograda por el uso de HCl 0,01 (pH 2,0); el mayor aumento en el pH resultó en la reducción de la solubilidad. No hubo mejora considerable en la solubilidad después de la micronización. De hecho, la solubilidad en HCl 0,01 (pH 2,0) es más baja.

#### 10 **Ejemplo 9**

Estudio del tamaño de partículas

La distribución del tamaño de partículas de *(R)*-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocromán-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona fue determinada por difracción del láser.

- 15 Fueron realizados experimentos de determinación del tamaño de partículas en un difractor láser Malvern Mastersizer 2000 equipado con una unidad de dispersión húmeda Hydro 2000S. La información analítica obtenida fue adquirida y procesada con el software Malvern Mastersizer 5.54.

Fueron usados los siguientes ajustes de instrumento:

Equipamiento	Malvern Mastersizer 2000	
Material	Muestra	(R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona
	Dispersante	Ciclohexano con tensioactivo; índice refractivo 1,426
Medición	Tiempo de fondo	15 segundos
	Tiempo de medición	30 segundos
	Velocidad de la bomba / agitador	2500 rpm
	Umbral del nivel de dispersante	15%

Los resultados son resumidos a continuación.

5 La distribución del tamaño de las partículas fue medida en muestras tanto antes de la micronización como después de la micronización.

Una distribución ponderada para el volumen fue obtenida para las muestras. La contribución de cada partícula en la distribución se refiere al volumen de esa partícula, es decir, la contribución relativa será proporcional al (tamaño)<sup>3</sup>.

10 Los parámetros ( $D_vX$ ) son informados a continuación en base al tamaño máximo de partículas para un porcentaje de volumen dado de la muestra. En  $D_vX$ , D se refiere a diámetro, v indica una ponderación de la distribución del volumen, y X es el porcentaje de muestra debajo de este tamaño de partículas. Por ejemplo,  $D_v50$  sería el diámetro máximo de partículas por debajo del cual existe 50% del volumen de la muestra.

Tres muestras de partículas no micronizadas de (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona fueron analizadas.

15 El valor de  $D_v10$  para las muestras oscila de aproximadamente 30 mm a aproximadamente 150 mm. El valor de  $D_v50$  para las muestras oscila de aproximadamente 200 mm a aproximadamente 300 mm. El valor de  $D_v90$  oscila de aproximadamente 400 mm a aproximadamente 600 mm.

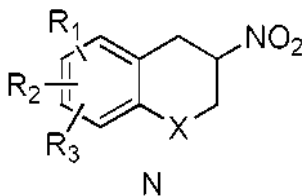
Nueve muestras de una partida micronizada de (R)-5-(2-(bencilamino)etil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1H-imidazol-2(3H)-iona fueron analizadas.

El valor de  $D_v10$  para las muestras oscila de aproximadamente 3 mm a aproximadamente 8 mm.

20 El valor de  $D_v50$  para las muestras oscila de aproximadamente 20 mm a aproximadamente 50 mm. El valor de  $D_v90$  oscila de aproximadamente 100 mm a aproximadamente 350 mm.

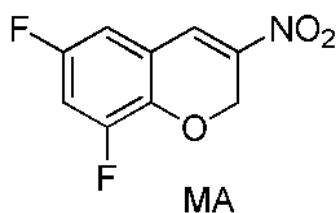
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula N

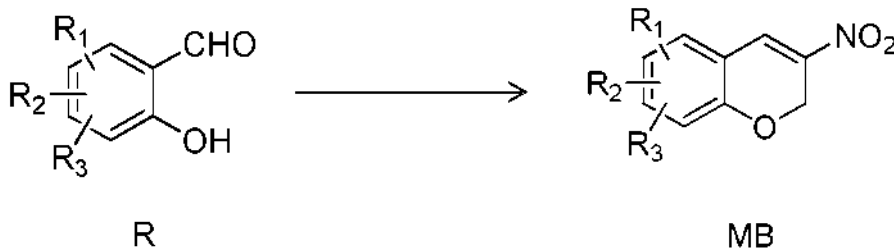


en la que: X es CH<sub>2</sub>, oxígeno o azufre, y uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son flúor.

- 5 2. Un compuesto de fórmula MA

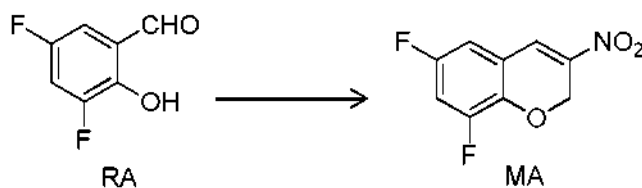


3. Un procedimiento de preparación de un compuesto de la fórmula MB, comprendiendo el procedimiento hacer reaccionar un compuesto de fórmula R con 2-nitroetanol o nitroetileno para obtener el compuesto MB, en el que uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son flúor.

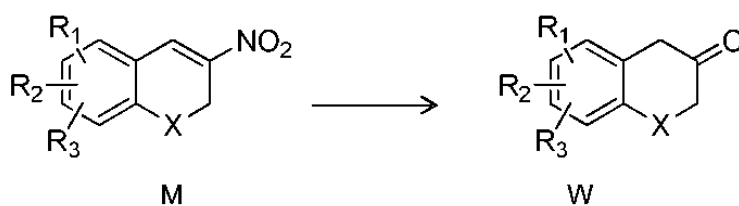


10

4. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula RA para formar un compuesto de fórmula MA:

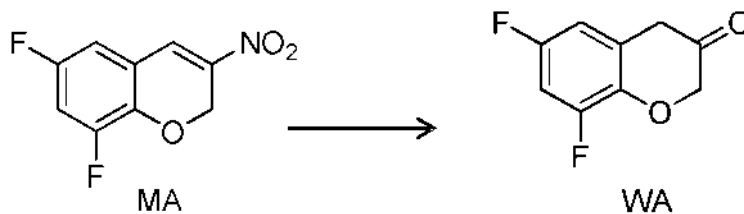


- 15 5. Un procedimiento de preparación de un compuesto de cromanona de fórmula W, comprendiendo el procedimiento hacer reaccionar un compuesto de fórmula M con hierro y ácido acético para obtener el compuesto de fórmula W

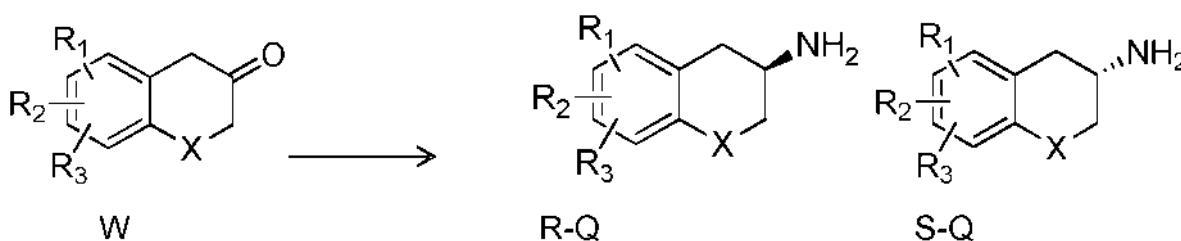


en las que: X es CH<sub>2</sub>, oxígeno o azufre, y en las que uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son flúor.

6. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que el compuesto M tiene la fórmula MA y el compuesto W tiene la fórmula WA:

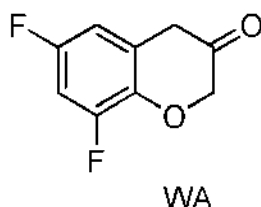


5 7. Un procedimiento de preparación del enantiómero (*R*) (R-Q) o el enantiómero (*S*) (S-Q) de un compuesto de fórmula Q, comprendiendo el procedimiento someter un compuesto de fórmula W a transaminación usando una enzima transaminasa y un donante del grupo nitrógeno.



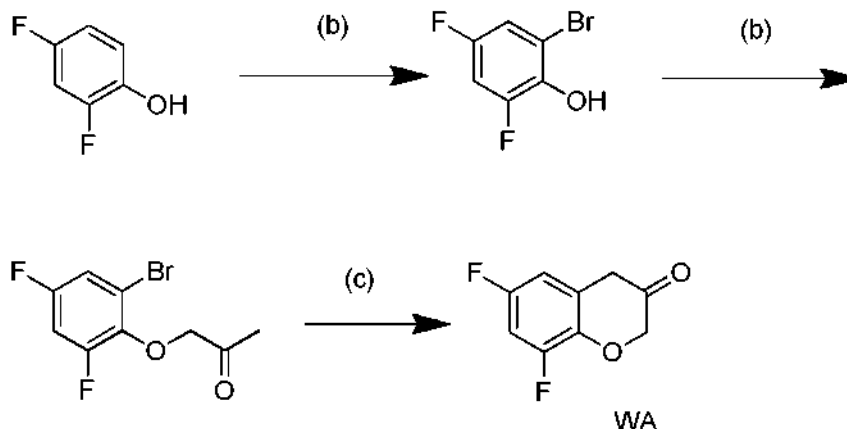
10 en las que: X es CH<sub>2</sub>, oxígeno o azufre, y uno de R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> es hidrógeno, y los otros son flúor.

8. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que el compuesto W tiene la fórmula WA:

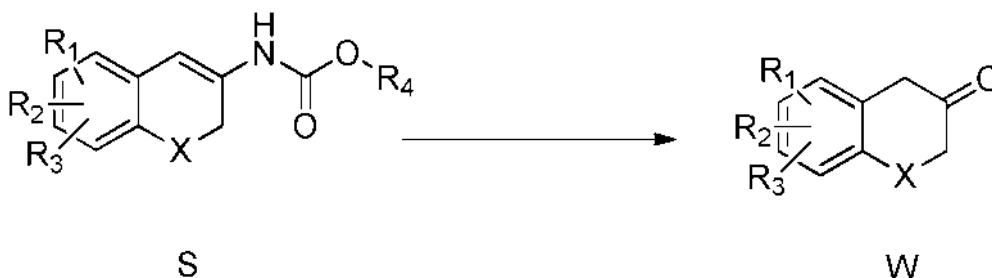


9. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en el que el compuesto de fórmula W ha sido preparado por un procedimiento definido en la reivindicación 5 o 6.

15 10. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en el que el compuesto W tiene la fórmula WA, y el compuesto de fórmula WA ha sido preparado por el siguiente procedimiento

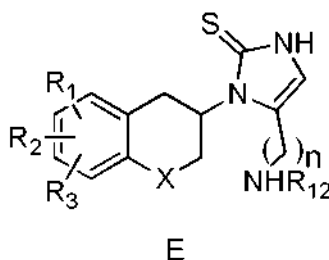


11. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en el que el compuesto de fórmula W es preparado a partir del carbamato de eno correspondiente de fórmula S, en el que el procedimiento comprende hacer reaccionar el compuesto de fórmula S en presencia de HCl y metanol:

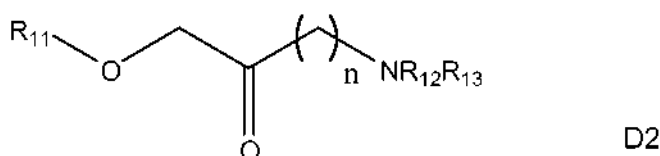


5 12. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 11, en el que: X, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son como se han definido en la reivindicación 1, y R<sub>4</sub> es alquilo o arilo, en el que: el término alquilo significa cadenas de hidrocarburo, rectas o ramificadas, que contienen de uno a seis átomos de carbono, opcionalmente sustituidos por grupos arilo, alcoxi, halógeno, alcocarbonilo o hidroxicarbonilo; el término arilo significa un grupo fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido por grupo alquilo, halógeno o nitro; y el término halógeno significa flúor, cloro, bromo o yodo.

10 13. Un procedimiento de preparación del enantiómero (R) o (S) de un compuesto de fórmula E o una sal del mismo,



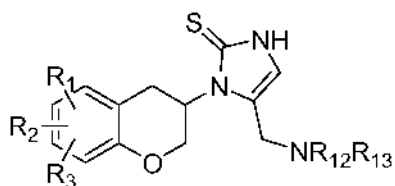
15 comprendiendo el procedimiento hacer reaccionar el enantiómero (R) o (S) correspondiente del compuesto de fórmula Q preparado de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12 con un compuesto de fórmula D2 con una sal de tiocianato hidrosoluble en presencia de un ácido orgánico en un disolvente sustancialmente inerte,



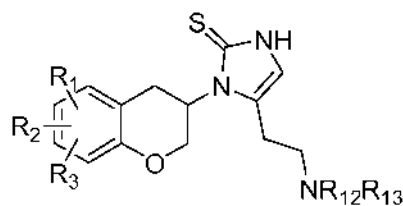
en la que R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> tienen los mismos significados anteriores, n significa 1, 2 o 3; R<sub>12</sub> significa hidrógeno, grupo alquilo o alquilarilo, R<sub>11</sub> significa un grupo de protección de hidroxilos y R<sub>13</sub> significa un grupo de protección de amino, o R<sub>11</sub> es definido como anteriormente pero R<sub>12</sub> y R<sub>13</sub> tomados en conjunto representan un grupo ftalimido;

20 seguido por la desprotección posterior de los productos intermedios F a I:

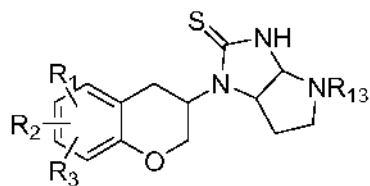




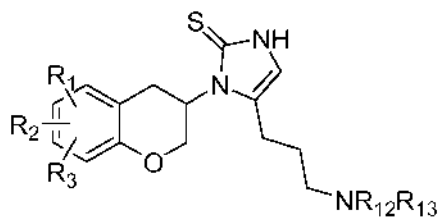
F



G



H



I

para producir el enantiómero (*R*) o (*S*) respectivo de un compuesto de fórmula E o una sal del mismo.

14. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el compuesto E es (*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

5 clorhidrato de (*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

(*S*)-5-(2-aminoetil)-1-(5,7-difluoro-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

(*R*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,7-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona; (*S*)-5-(2-aminoetil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona; (*R*)-5-aminometil-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona; (*R*)-5-(3-aminopropil)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

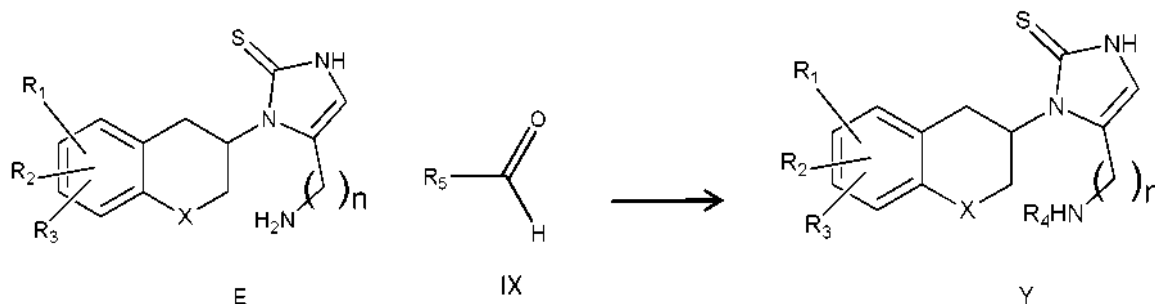
10

(*S*)-5-(3-aminopropil)-1-(5,7-difluoro-1,2,3,4-tetrahidronaftalen-2-il)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona;

o, (*R*)-1-(6,8-difluorocroman-3-il)-5-(2-metilaminoetil)-1,3-dihidroimidazol-2-tiona o una sal del mismo, preferentemente la sal es la sal clorhidrato.

15. Un procedimiento de preparación del enantiómero (*R*) o (*S*) individual o una mezcla de los enantiómeros (*R*) y (*S*) o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula Y, procedimiento que comprende hacer reaccionar el enantiómero (*R*) o (*S*) o una mezcla de los enantiómeros (*R*) y (*S*) de un compuesto de fórmula E con un compuesto de fórmula IX bajo condiciones de alquilación reductiva,

15



E

IX

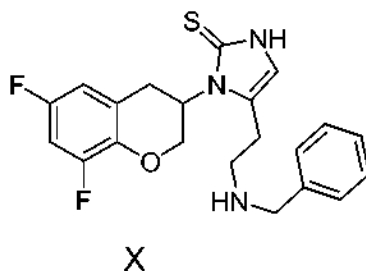
Y

en el que el compuesto E ha sido preparado de acuerdo con la reivindicación 13 o 14, en las que X, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub> y R<sub>3</sub> son como se han definido en la reivindicación 1; R<sub>4</sub> significa -alquil-arilo o -alquil-heteroarilo; R<sub>5</sub> significa arilo o heteroarilo; n es 2 o 3; en el que el término alquilo significa cadenas de hidrocarburo, rectas o ramificadas, que contienen de uno a seis átomos de carbono, opcionalmente sustituidos por grupos arilo, alcoxi, halógeno, alcóxycarbonilo o hidroxycarbonilo; el término arilo significa un grupo fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido por grupo alquilo, alquiloxi, halógeno o nitró; el término halógeno significa flúor, cloro, bromo o yodo; el término heteroarilo significa grupo heteroaromático.

20

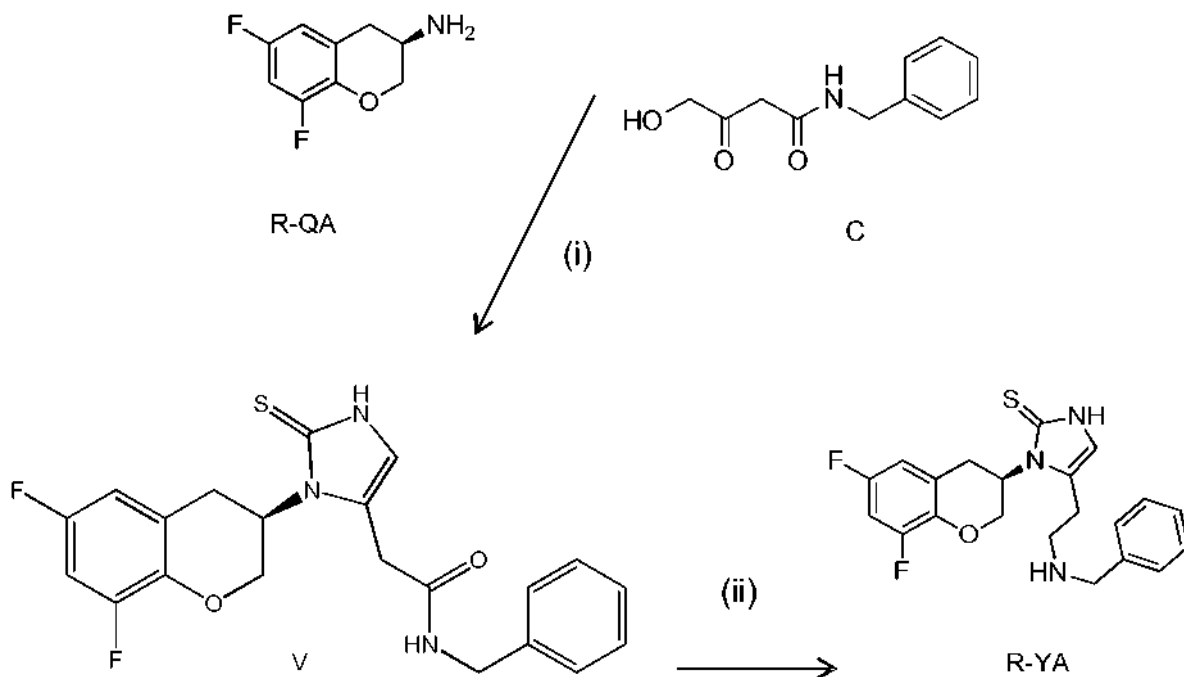
25

16. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 15, en el que el compuesto de fórmula Y es un compuesto de fórmula X:



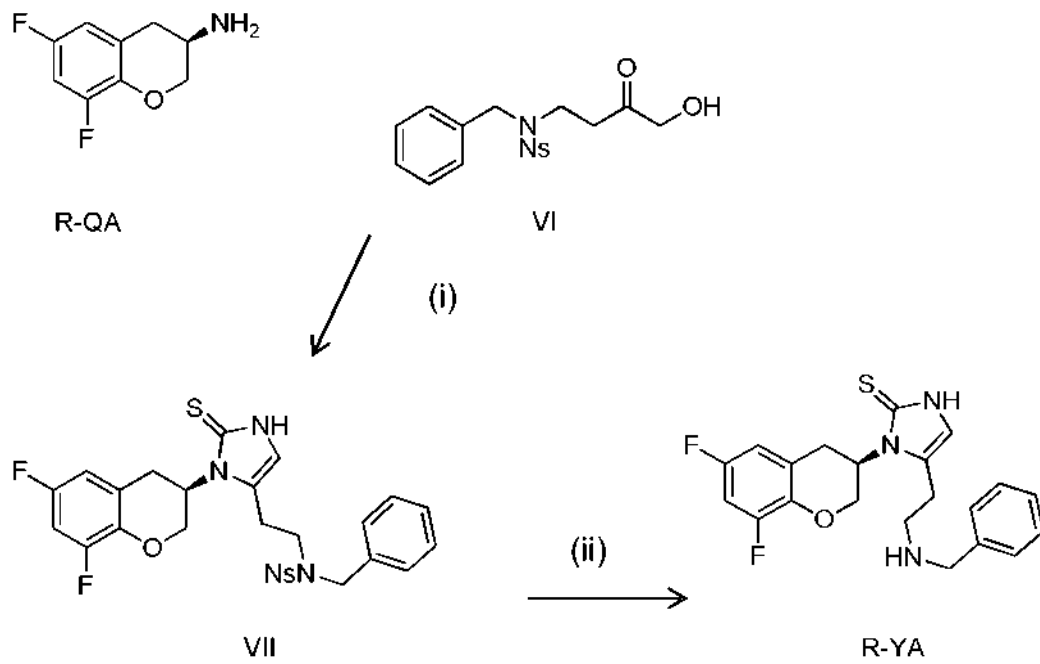
5 su enantiómero (*R*) o (*S*), o mezcla de los enantiómeros (*R*) y (*S*), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

17. Un procedimiento de preparación del enantiómero (*R*) o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula YA (*R*-YA), procedimiento que comprende hacer reaccionar una sal del enantiómero (*R*) de un compuesto de fórmula QA (*R*-QA) con un compuesto de fórmula C, para obtener un compuesto de fórmula V y convertir el compuesto de fórmula V en el compuesto de fórmula *R*-YA.



10 en el que la sal del compuesto *R*-QA ha sido preparada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, en el que la sal del compuesto *R*-QA es seleccionada de L-tartrato, clorhidrato, mesilato, tosilato, trifluoroacetato, citrato, glicolato y oxalato, preferentemente la sal del compuesto *R*-QA es la sal de L-tartrato.

15 18. Un procedimiento de preparación del enantiómero (*R*) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de un compuesto de fórmula YA (*R*-YA), procedimiento que comprende hacer reaccionar una sal del enantiómero (*R*) de un compuesto de fórmula QA (*R*-QA) con un compuesto de fórmula VI, para obtener un compuesto de fórmula VII y convertir el compuesto de fórmula VII en el compuesto de fórmula *R*-YA.



en el que la sal del compuesto R-QA ha sido preparada de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 12, en las que Ns significa o-nitrofenilsulfonilo y la sal del compuesto R-QA es seleccionada de L-tartrato, clorhidrato, mesilato, tosilato, trifluoroacetato, citrato, glicolato y oxalato, preferentemente la sal del compuesto R-QA es la sal de L-tartrato.

5