

Brevetto europeo No. 3655395

Domanda di brevetto europeo No. 18785785.9

Data di deposito: 19 luglio 2018

Classificazione IPC: C07D235/06, C07C233/41, C07D487/04, C07D207/273

5 Classificazione CPC: C07D487/04 (EP,EA,KR,US); A61K31/53 (KR); A61P35/00 (KR);  
C07C269/06 (EP,EA,KR); C07C271/22 (EP,EA,KR); C07C327/22 (EP,EA,KR); (+)

Classificazione C-Set: C07C269/06, C07C271/22 (EP)

Priorità: Statunitense No. 201762534908P del 20 luglio 2017

10 Titolo: "Procedimento per la preparazione di N-((1R,2S,SR)-5-(tert-butilammino)-2-((S)-3-(7-tert-butilpirazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-ilammino)-2-ossopirrolidin-1-il)cicloesil)acetammide"

Richiedente: Bristol-Myers Squibb Company  
Route 206 and Province Line Road  
Princeton, NJ 08543  
U.S.A.

15 Inventori: AYTAR, Burcu Selin  
BOROVIKA, Alina  
CHAN, Collin  
DEERBERG, Joerg  
DOMAGALSKI, Nathan R.  
20 EASTGATE, Martin D.  
FAN, Yu  
FENSTER, Michael David Bengt  
FOREST, Robert V.  
GONZALEZ-BOBES, Francisco  
25 GREEN, Rebecca A.

HICKEY, Matthew R.  
KOPP, Nathaniel David  
LA CRUZ, Thomas E.  
LAUSER, Kathleen  
LEE, Hong Geun  
LEAHY, David K.  
LUO, Helen Y.  
RAZLER, Thomas M.  
SAVAGE, Scott A.  
SFOUGGATAKIS, Chris  
SOUMEILLANT, Maxime C.D.  
ZARETSKY, Serge  
ZHENG, Bin  
ZHU, Ye

\*\*\*\*\*

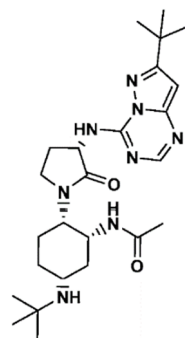
Descrizione

CAMPO DELL'INVENZIONE

L'invenzione riguarda in generale procedimenti migliorati per la preparazione di N-((1R,2S,5R)-5-(tert-butilammino)-2-((S)-3-(7-tert-butilpirazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-ilammino)-2-ossopirrolidin-1-il)cicloesil)acetammide, un modulatore duale dell'attività del recettore delle chemochine.

SFONDO DELL'INVENZIONE

Vengono descritti qui procedimenti migliorati per la preparazione di N-((1R,2S,5R)-5-(tert-butilammino)-2-((S)-3-(7-tert-butilpirazolo[1,5-a][1,3,5]triazin-4-ilammino)-2-ossopirrolidin-1-il)cicloesil)acetammide, di formula I:

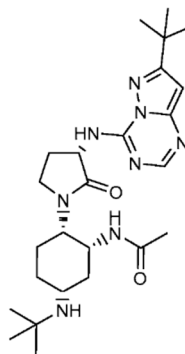


(I)

Il Composto I, le forme cristalline del Composto I, le composizioni comprendenti il Composto I, e un procedimento alternativo per preparare il Composto I vengono descritti nel brevetto US 8,383,812, che è assegnato al presente titolare. La preparazione del Composto I è nota anche da Norman, P. Expert Opin. Ther. Patents 2011; 21(12), 1919-1924. Il Composto I può essere utile in combinazione con alcuni agenti antitumorali per il trattamento di vari tipi di cancro.

RIASSUNTO DELL'INVENZIONE

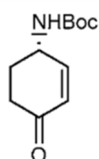
In un primo aspetto, l'invenzione fornisce un procedimento per la preparazione del Composto I di formula:



(I)

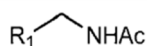
comprendente i passaggi di

a) far reagire il Composto 1 di formula



Composto 1

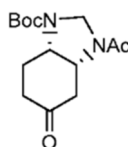
con il Composto 2 di formula generale



Composto 2

5

dove R<sub>1</sub> è un gruppo uscente, quale alogeno, OAc, ecc. e un acido, quale un acido minerale o organico quale MSA, CSA, o un acido di Lewis, quale LiX, BF<sub>3</sub>-eterato, in un solvente adatto quale DCM, DCE, CHCl<sub>3</sub>, CCl<sub>4</sub>, etere dietilico, THF, metil t-butil etere o altri solventi eterici, a dare il Composto 3 di formula



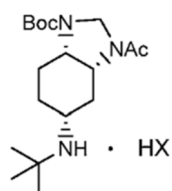
Composto 3

10 b) far reagire il Composto 3 in una reazione di amminazione riduttiva con un'ammina primaria o secondaria (HNR<sub>2</sub>R<sub>3</sub>) in cui

R<sub>2</sub> e R<sub>3</sub> sono idrogeno o C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alchile;

mediata da un acido di Lewis quale Ti(Oi-Pr)<sub>4</sub>, cui segue una reazione con un donatore di idruro adatto, quale NaBH<sub>4</sub>, oppure una combinazione di un catalizzatore quale Pt/Al o Pd/C e idrogeno gassoso, a dare il Composto 4 di

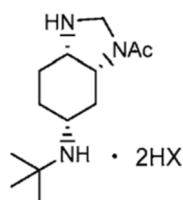
15 formula



Composto 4

in cui il Composto 4 può esistere come base libera o sale d'ammonio, in cui X è un controione inorganico quale alogeno, solfato, o un controione organico quale tartrato, o citrato;

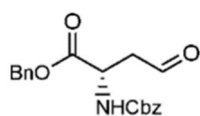
- 5 c) successivamente far reagire il sale del Composto 4 con  $i\text{-PrOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$  o renderlo una base libera prima con NaOH e quindi con una miscela appropriata di acido/solvente quale MSA/DCM in un rapporto di 1:21,4 o  $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{IPA}$  in un rapporto di 1:588, a dare il Composto 5 di formula



Composto 5

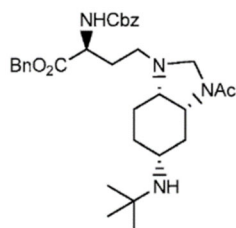
in cui il Composto 5 può esistere come base libera o sale d'ammonio, in cui X è un controione inorganico quale alogeno, solfato o un controione organico quale tartrato, o citrato;

- 10 d) far reagire il Composto 5, o un suo sale, in un'amminazione riduttiva, in un solvente appropriato e utilizzando una fonte di idruro quale triacetossiboroidruro, con il Composto 6 di formula



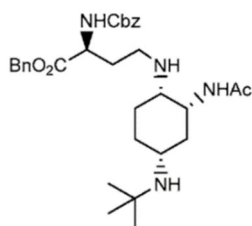
Composto 6

a dare il Composto 7 di formula,



Composto 7

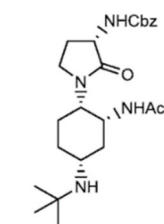
e) che viene quindi fatto reagire con un acido quale TFA, in presenza di NH<sub>2</sub>OH, o un suo sale, e un solvente adatto a dare il Composto 8 di formula



Composto 8

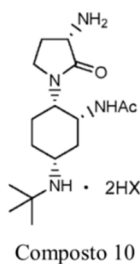
5

f) che viene fatto reagire ulteriormente con un acido quale TFA, una base, e scaldato a 45-70°C in un solvente appropriato, quale toluene, acetato di isopropile, n-eptano, NMP, DMF, etere dietilico, THF, metil t-butil etere o altri solventi eterei o miscele di solventi a dare il Composto 9 di formula

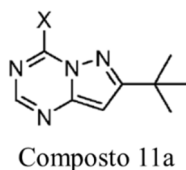


Composto 9

g) rimuovere successivamente il gruppo protettivo mediante un metodo adatto, quale l'idrogenazione con Pd/C che può essere isolato come base libera o sale mono o bis formato mediante reazione con un acido quale HCl o HBr, in cui X è un alogeno, a dare il Composto 10 di formula



5 h) che viene quindi fatto reagire con il Composto 11a di formula

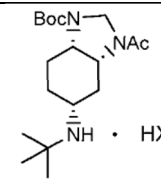
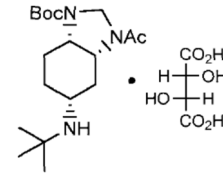
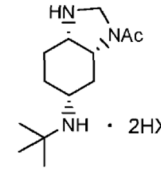
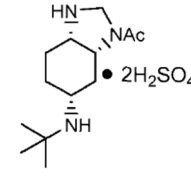
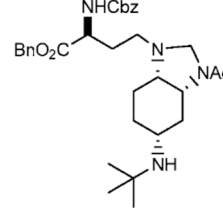


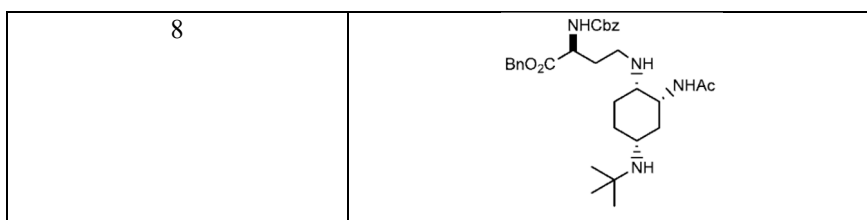
in cui X è un gruppo uscente, quale alogeno, azoto o OR,

in cui R è alchile, arile, un fosfoestere o un estere solfato adatti, a dare il Composto I, che viene cristallizzato da una miscela di solventi adatta quale 2-MeTHF/n-eptano, o altri solventi eterei/idrocarburi.

10 In un secondo aspetto dell'invenzione, vengono forniti nuovi composti intermedi come mostrato nella tabella sotto;

Composto No.	Struttura
3	

4	
4a	
5	
5a	
7	



che vengono utilizzati nel procedimento dell'invenzione.

In una forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il gruppo uscente nel passaggio a) del primo aspetto è un gruppo uscente alogeno o OAc.

5 In una forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui l'acido nel passaggio a) del primo aspetto è un acido minerale o organico.

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui l'acido nel passaggio a) del primo aspetto è l'acido metansolfonico (MSA) o l'acido canforsolfonico (CSA).

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui l'acido nel passaggio a) del primo aspetto è un acido di Lewis.

10 In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui l'acido di Lewis è LiX, in cui X è alogeno, o BF<sub>3</sub>-eterato.

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il solvente nel passaggio a) del primo aspetto è DCM, DCE, CHCl<sub>3</sub> o CCl<sub>4</sub> o una loro miscela.

15 In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il Composto 4 del primo aspetto è la base libera.

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il Composto 4 del primo aspetto è il sale d'ammonio.

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui la miscela di acido/solvente nel passaggio c) del primo aspetto è MSA/DCM in un rapporto di 1:21,4.

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui l'acido nel passaggio e) del primo aspetto è TFA e il solvente è toluene.

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il Composto 8 del primo aspetto viene fatto reagire con un acido o con una base.

5 In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il Composto 8 viene scaldato in un solvente/una miscela di solventi dove i solventi sono toluene, acetato di isopropile, n-eptano, NMP, DMF, etere dietilico, THF, metil t-butil etere o altri solventi eteri.

10 In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui l'amminazione riduttiva nel passaggio b) del primo aspetto utilizza Pd/C e MeOH e l'amminazione riduttiva nel passaggio d) utilizza triacetossiboroidruo di sodio.

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il sale con HBr del Composto 10 viene formato nel passaggio g).

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui nel passaggio h) del primo aspetto il Composto 11 viene attivato con 1-metilimidazolo e difenil fosforil cloruro a dare il Composto 11a.

15 In una forma di realizzazione dell'invenzione, nel passaggio a) del secondo aspetto,  $R_1$  è  $C_1-C_6$  alchile o benzile; e  $R_2$  è  $C_1-C_6$  alchile,  $-C(O)O C_1-C_6$  alchile,  $-C(O)O$  benzile,  $-SO_2NH C_1-C_6$  alchile,  $-SO_2NH$  benzile,  $-P(O)-N C_1-C_6$  alchile,  $-P(O)-N$  benzile,  $-N-C_1-C_6$  alchile o N-benzile.

In una forma di realizzazione dell'invenzione, nel passaggio b) del secondo aspetto,  $R_3$  è idrogeno,  $C_1-C_{12}$  alchile o benzile.

20 In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il reagente di attivazione nel passaggio b) del secondo aspetto è DCC,  $Piv_2O$ ,  $PivCl$ , o  $(COCl)_2$ .

In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui il reagente di attivazione nel passaggio b) del secondo aspetto è dodecantiolo o altri tioli ( $R_3$ ).

25 In un'altra forma di realizzazione dell'invenzione, viene qui descritto il procedimento in cui l'agente riducente nel passaggio c) del secondo aspetto è Pd/C e l'agente riducente è  $Et_3SiH$ .

Il Composto I che non fa parte dell'invenzione può essere preparato mediante i procedimenti descritti qui.

5 Un procedimento per trattare il cancro, che non fa parte dell'invenzione, comprende la somministrazione a una specie di mammifero, preferibilmente l'uomo, che lo richiede, di una quantità terapeuticamente efficace del Composto I in combinazione con un altro agente antitumorale, preferibilmente nivolumab, in cui il Composto I viene preparato utilizzando i nuovi passaggi di procedimento dell'invenzione.

I procedimenti dell'invenzione hanno diversi vantaggi importanti rispetto alle sintesi precedenti del Composto I. In particolare, grazie alla sequenza breve di passaggi chimici, alle rese elevate e al miglioramento del procedimento, il volume, il tempo di ciclo e la resa complessiva sono stati notevolmente migliorati. Inoltre, il procedimento fornisce costantemente il Composto I in qualità elevata per l'uso come API farmaceutico.

## 10 DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

### Esempi

L'invenzione verrà ora descritta ulteriormente grazie all'esempio/agli esempi pratico/i seguente/i, che è/sono forme di realizzazione preferite dell'invenzione. Tutte le temperature sono in gradi Celsius (°C) se non indicato diversamente. Questi esempi sono esemplificativi piuttosto che limitanti.

15 Per semplicità, possono essere utilizzate le seguenti abbreviazioni qui.

Abbreviazioni	Nome
CH <sub>3</sub> CN, MeCN	acetonitrile
aq.	acquoso
Bn	benzile
Boc	carbammato di t-butile
Boc <sub>2</sub> O	dicarbonato di di-t-butile
Bu	butile
Cbz	benzilcarbammato
conc.	concentrato

DCC	dicicloesilcarbodiimmide
DCE	dicloroetano
DCM	diclorometano
DEA	dietanolammina
DMAP	4-N,N-dimetilamminopiridina
DMF	dimetilformammide
DMSO	dimetilsolfossido
eq.	equivalenti
Et	etile
EtOAc	acetato di etile
EtOH	etanolo
Et <sub>2</sub> O	etere dietilico
Et <sub>3</sub> N	triethylammina
Et <sub>3</sub> SiH	triethylsilano
h	ora/e
HPLC	cromatografia liquida a pressione elevata
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	acido solforico
IPAc	acetato di isopropile
i-PrOH	isopropanolo
Kf, kf	Karl-Fischer
kLa	coefficiente del trasferimento di massa
LAH	idruro di litio e alluminio
Me	metile
MeOH	metanolo

MSA	acido metansolfonico
MTBE	metil t-butil etere
NH <sub>2</sub> OH	idrossilammina
NMI	1-metilimidazolo
NMR	risonanza magnetica nucleare
Pt/Al	platino su allumina
Pd/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	palladio su allumina
Pd/C	palladio su carbone
Ph	fenile
RAP	area relativa percentuale
ta/TA	temperatura ambiente
sat.	saturo
STAB	triacetossiboroidruro di sodio
t-Bu	butile terziario
t-BuOH	butanolo terziario
TCFH	tetrametilcloroformammidinio esafluorofosfato
TFA	acido trifluoroacetico
THF	tetraidrofurano
Ti(OPr) <sub>4</sub>	isopropossido di titanio(IV)
Z-ASP-OBZL	estere β-benzilico dell'acido N-Cbz-L-aspartico

Esempio 1

Preparazione del Composto 3



Il flusso ricco di prodotto è stato raffreddato a 50°C e vi è stato aggiunto n-eptano (50,5 ml) lentamente nel corso di 10 minuti (soluzione al ~25% in peso del Composto 3 in n-eptano ~35%/MTBE (vol/vol)). È stato quindi aggiunto il Composto 3 solido (0,63 g, equivalente al ~2% in peso del Composto 3 presente nel flusso del procedimento) e la miscela è stata fatta riposare a ~50°C per ~30 minuti. L'impasto successivo è stato raffreddato a ~22°C in un periodo di 3 ore, fatto riposare a 22°C per 3 ore, ulteriormente raffreddato a ~0°C in un periodo di 3 ore e fatto riposare a questa temperatura finché non fosse rimasto <6% in peso della massa del Composto 3 inizialmente presente nel surnatante.

#### Passaggio 5: Isolamento

L'impasto è stato filtrato a 0°C e lavato per due volte con n-eptano/MTBE 50:50 (vol/vol) (~75-100 ml).

#### Passaggio 6: Essiccamento

10 Il Composto 3 isolato è stato fatto essiccare a temperatura ambiente sotto vuoto completo. 27,70 g del Composto 3 sono stati isolati (resa dell'82,9%, >99% LCAP a  $\lambda$ 205 nm, 100% di potenza) come solido bianco.

Analisi mediante HPLC:

Composto 3: 98,9 PA (8,46 min);

Gradiente = % di B iniziale = 0

15 % di B finale = 100

Tempo del gradiente = 10 minuti

Velocità di flusso = 1 ml/min

Lunghezza d'onda 1 = 205

Lunghezza d'onda 2 = 220

20 Solvente A = TFA allo 0,05% in MeOH:acqua (20:80)

Solvente B = TFA allo 0,05% in MeOH:CH<sub>3</sub>CN (20:80)

Colonna: Phenomenex Luna C18(2) 3  $\mu$ m 4,6 x 150 mm

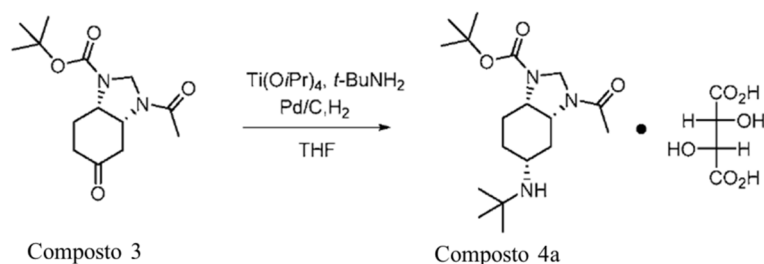
I dati di NMR vengono presentati come miscela di rotameri:

$^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, cloroformio-d)  $\delta$  1,45 (s, 38 H), 1,94-2,08 (m, 13H), 2,08-2,47 (m, 17H), 2,48-2,61 (m, 1H), 2,62-2,83 (m, 8H), 4,25-4,34 (m, 3H), 4,36 (s largo, 1H), 4,42-4,56 (m, 2H), 4,64 (d,  $J=6,82$  Hz, 3H), 4,70-4,81 (m, 3H), 4,93 (s largo, 3H), 5,19 (s largo, 1H) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  (101 MHz, cloroformio-d)  $\delta$  21,30 (s, 1C), 22,57 (s, 1C), 28,21 (s, 1C), 34,76 (s, 1C), 40,86 (s, 1C), 42,88 (s, 1C), 53,45 (s, 1C), 54,11 (s, 1C), 54,81 (s, 1C), 55,40 (s, 1C), 60,27 (s, 1C), 61,48 (s, 1C), 81,10 (s, 1C), 152,65 (s, 1C), 153,02 (s, 1C), 167,54 (s, 1C), 208,30 (s, 1C), 209,51 (s, 1C) ppm.

Esempio 2

Preparazione del Composto 4a



10 Tutte le equivalenze sono state calcolate sulla base del Composto 3 (300,0 g).

Passaggio 1: Formazione di immine

In una bottiglia da 4 litri (Reattore A) sono stati aggiunti (3aR,7aS)-tert-butil 3-acetil-5-ossoottaidro-1H-benzo[d]imidazol-1-carbossilato (Composto 3, 1,0 eq, 1,06 mol), THF (5 l/kg), titanio tetra(isopropossido) (1,7 eq, 1,81 mol) e 2-metil-2-propanammina, (1,5 eq, 1,59 mol). La miscela risultante è stata fatta riposare per 4-16 ore a 25°C.

15 Passaggio 2: Amminazione riduttiva

In un reattore Büchi da 5 l (Reattore B) è stato aggiunto Pd/C (54% di umidità; al 5% in peso, 13,5 mmol) e MeOH (0,67 l/kg). La miscela è stata filtrata e risciacquata con THF (0,5 l/kg x 3) quindi trasferita di nuovo al Reattore B. La miscela di immine dal Reattore A è stata quindi aggiunta al Reattore B. Il Reattore A è stato risciacquato con THF (0,67 l/kg) e il risciacquo è stato aggiunto al Reattore B. Il Reattore B è stato spurgato con azoto per tre volte, seguito da idrogeno per due volte. Il Reattore B è stato quindi pressurizzato con idrogeno a 30 psi e agitato a 600 giri/min per 2 ore.

### Passaggio 3: Lavorazione della reazione

La miscela di reazione è stata filtrata attraverso un filtro Cuno da 0,5 micron. Il Reattore B è stato quindi risciacquato con THF (0,83 l/kg x 2). Il filtrato e il risciacquo combinati sono stati aggiunti a un reattore Chemglass da 10 l (Reattore C), seguiti da 2-propanammina (2,0 eq, 2,12 mol) e NaOH 5N (0,37 eq, 375 mmol). La miscela è stata mantenuta sotto agitazione per 16 ore a temperatura ambiente e quindi filtrata. Il reattore e il residuo solido sono stati lavati con THF (4 l/kg x 2), quindi il residuo solido è stato lavato con ulteriore THF (3,3 l/kg). Il filtrato torbido è stato filtrato ancora, quindi aggiunto a un reattore Chemglass da 10 l (Reattore D) seguito dai risciacqui.

### Passaggio 4: Cristallizzazione

La miscela nel Reattore D è stata concentrata a pressione ridotta a 2,7 l/kg, quindi il solvente è stato scambiato ad acetone attraverso distillazione a più passaggi. Durante questa operazione, è stato utilizzato acetone (5,4 l/kg) e 5,4 l/kg di solvente sono stati rimossi dal reattore D. Alla miscela sono stati aggiunti acetone (10,6 l/kg), quindi una soluzione di acido L-tartarico (0,93 eq, 988 mmol) in MeOH (1 l/kg), e quindi ulteriore acetone (5,7 l/kg) a 45°C. La miscela risultante è stata fatta raffreddare a 25°C nel corso di 2 ore e fatta riposare per 16 ore.

### Passaggio 5: Isolamento:

L'impasto nel reattore D è stato filtrato. Il reattore è stato risciacquato con acetone (2,7 l/kg). Il residuo solido è stato quindi lavato con questo risciacquo del reattore, seguito da acetone (2,3 l/kg). Il prodotto è stato fatto essiccare sottovuoto a 35°C per 5 ore. Il prodotto, il Composto 4a, (3aR,5R,7aS)-tert-butil 3-acetil-5-(tert-butilammino)ottaidro-1H-benzo[d]imidazol-1-carbossilato 2,3-diidrossisuccinato è stato isolato come polvere solida bianca. 462 g, resa dell'89%.

### 20 Procedure alternative

#### Passaggio 2: Amminazione riduttiva alternativa

Il Reattore B è stato svuotato con azoto. La soluzione di reazione dal Reattore A è stata trasferita al Reattore B. Platino al 5% su allumina (Pt/Al, 0,10 kg, 0,10 kg/kg) è stato caricato nel Reattore B, seguito da un risciacquo con tetraidrofurano dal Reattore A al Reattore B (1,0 l, 0,89 kg, 1,0 l/kg). Il Reattore B è stato spurgato due volte con azoto a 20-30°C. La miscela è stata mantenuta sotto agitazione a 25°C, 0,45-0,55 MPa per 16 ore. Il Reattore B è stato quindi

scaricato e spurgato con azoto. La miscela è stata filtrata nel Reattore A e come risciacquo è stato utilizzato tetraidrofurano (1,0 l, 0,89 kg, 1,0 l/kg).

Passaggio 3: Lavorazione alternativa della reazione

5 Acqua (7,5 l, 7,5 kg, 7,5 l/kg) e citrato d'ammonio tribasico (4,39 kg, 5,1 eq) sono stati caricati nel Reattore C. Il flusso di reazione dal Reattore A è stato trasferito al Reattore C a una velocità tale che la temperatura non superasse 30°C. La miscela nel reattore C è stata scaldata a 40-50°C e fatta riposare per 1 ora. La miscela nel Reattore C è stata fatta raffreddare a 15-25°C e agitata per 0,5 ore. L'agitazione è stata fermata e le fasi sono state fatte sedimentare per 1 ora a 15-25°C (obiettivo 20°C). Le fasi sono state separate e lo strato acquoso inferiore dal Reattore C è stato inviato allo scarico.

10 Il lotto è stato concentrato finché non fossero rimasti 2-3 l/kg rispetto a (3aR,7aS)-tert-butil 3-acetil-5-ossoottaidro-1H-benzo[d]imidazol-1-carbossilato (Composto 3). Metil tert-butil etere è stato caricato (5,0 l, 3,7 kg, 5,0 l/kg) ad una temperatura non superiore a 50°C nel reattore C. Il lotto è stato concentrato di nuovo finché non fossero rimasti 2-3 l/kg rispetto al Composto 3. Metil tert-butil etere (10,0 l, 7,4 kg, 10,0 l/kg) è stato quindi caricato nel Reattore C.

15 Il Reattore A (prerisciacquato) è stato caricato con acqua (0,94 l, 0,94 kg, 0,94 l/kg) e cloruro di sodio (0,10 kg, 0,10 kg/kg). La temperatura della massa nel Reattore C è stata regolata a 15-25°C. La soluzione di cloruro di sodio dal reattore A è stata aggiunta alla massa nel Reattore C e agitata per 0,5 ore. L'agitazione è stata fermata e le fasi sono state lasciate sedimentare per 1 ora a 15-25°C, obiettivo 20°C. Le fasi sono state quindi separate e lo strato acquoso inferiore dal reattore C è stato inviato allo scarico.

20 Il flusso di reazione dal Reattore C è stato filtrato in un reattore D pulito e riempito con azoto. Nel Reattore C è stato aggiunto metanolo (5,0 l, 3,96 kg, 5,0 l/kg), quindi è stato trasferito al Reattore D. Il lotto nel Reattore D è stato concentrato finché non fossero rimasti 2-3 l/kg rispetto al Composto 3.

Passaggio 4: Cristallizzazione alternativa

25 Nel Reattore D è stato caricato metanolo (4,0 l, 3,16 kg, 4,0 l/kg) attraverso un filtro in linea ad una temperatura non superiore a 50°C. La quantità di Composto 4 in soluzione è stata quantificata. Sono stati aggiunti metanolo (2,0 l,

1,58 kg, 2,0 l/kg) e acido L-(+)-tartarico (1,15 eq rispetto al Composto 4 in soluzione) nel Reattore C a 10-30°C. La soluzione di acido L-(+)-tartarico è stata quindi trasferita al Reattore D attraverso un filtro in linea a 20-30°C e la soluzione nel Reattore D è stata scaldata a 48-53°C. È stato quindi caricato MTBE (18,0 l, 13,3 kg, 18,0 l/kg) nel Reattore D a 48-53°C a una velocità tale che la temperatura rimanesse superiore a 48°C. La miscela di reazione è stata fatta riposare a 48-53°C finché non fosse stata osservata la precipitazione di solidi, quindi è stata raffreddata a 20-25°C a una velocità di 5-10°C/h, e fatta riposare per 4 ore.

Passaggio 5: Isolamento alternativo

I solidi sono stati quindi filtrati. Metil t-butil etere (2,0 l, 1,48 kg, 2,0 l/kg) è stato caricato nel Reattore D attraverso un filtro in linea e utilizzato per risciacquare il prodotto residuo solido. Il residuo solido è stato fatto essiccare a un punto di riferimento della camicia di 45-50°C, a pressione ridotta con un flusso di azoto per non meno di 10 ore.

Analisi mediante HPLC:

Composto 4a: 99,6 PA (6,8 min)

Colonna: YMC ProC18 5 µm 50 X 4,6 mm

Solvente A: TFA allo 0,05% in CH<sub>3</sub>CN:acqua (5:95)

Solvente B: TFA allo 0,05% in CH<sub>3</sub>CN

Gradiente: % di B: 0 minuti 0%; 8 minuti 25%; 0 minuti 100%; tempo di arresto: 12 minuti

Velocità di flusso: 1,0 ml/min

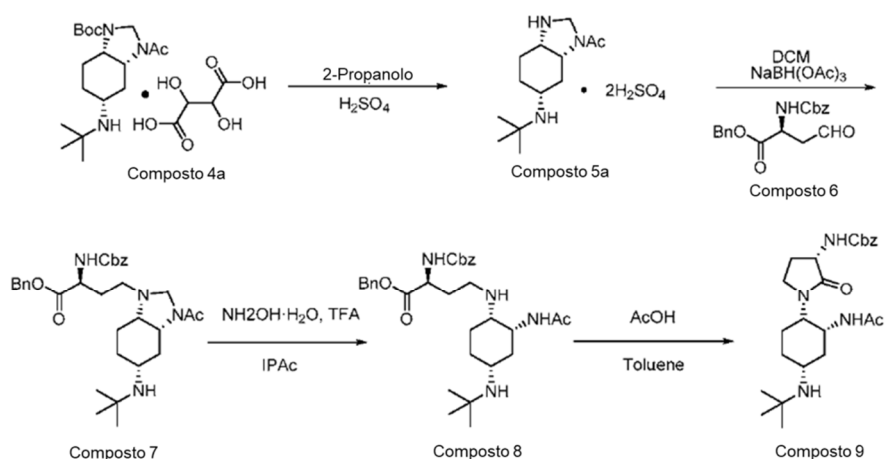
Lunghezza d'onda: 205 nm

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, metanolo-d<sub>4</sub>) δ 4,98 (d, J=8,6 Hz, 1H), 4,92 (d, J=7,1 Hz, 1H), 4,58 (d, J=8,8 Hz, 1H), 4,45 (dt, J=10,9, 5,8 Hz, 1H), 4,36-4,30 (m, 4,4H), 3,85-3,82 (m, 1H), 3,76-3,73 (m, 1H), 3,42-3,35 (m, 2H), 3,27 (ddd, J=4,8, 3,3, 1,5 Hz, 4,4H), 2,93 (d, J=14,4 Hz, 1H), 2,81 (d, J=15,9 Hz, 1H), 2,39-2,33 (m, 1H), 2,27-2,21 (m, 1H), 2,09 (s, 3H), 2,02 (s, 3H), 1,90-1,83 (m, 2H), 1,82-1,71 (m, 2H), 1,65-1,51 (m, 3H), 1,46 (s, 9H), 1,45 (s, 9H), 1,39 (s, 9H), 1,38 (s, 9H), 1,32-1,21 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (100 MHz, metanolo-d<sub>4</sub>) δ 177,3, 170,2, 170,1, 156,2, 155,9, 82,6, 82,4, 74,4, 62,3, 61,4, 59,5, 59,4, 57,9, 56,5, 55,6, 55,4, 51,6, 51,3, 50,0, 33,4, 31,8, 30,9, 28,8, 26,7, 26,7, 26,6, 26,5, 24,9, 22,1, 21,2.

### Esempio 3

#### Preparazione del Composto 9



benzil ((S)-1-((1S,2R,4R)-2-acetammido-4-(tert-butilamino)cicloesil)-2-ossopirrolidin-3-il)carbammato

#### Passaggio 1: Deprotezione di Boc

- 5 Il Composto 4a 50 g, (102,13 mmol) e 2-propanolo (reagente limitante 4 ml/g) vengono miscelati, e scaldati a 58°C. Nella miscela di reazione è stato caricato acido solforico concentrato (0,63 g/g di reagente limitante o 3 eq) nel corso di ~1 ora ed è stato fatto riposare a 58°C per 4 ore in totale. Il lotto è stato raffreddato a 40°C, e i solidi sono stati quindi filtrati. Il residuo solido è stato lavato con 2-propanolo (reagente limitante 2 ml/g), e fatto essiccare a 60°C per 12 ore a dare il composto 5a.
- 10 <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 10,53-8,96 (m, 9H), 8,38-8,03 (m, 5H), 7,98 (d largo, J=7,0 Hz, 1H), 7,86 (d largo, J=2,7 Hz, 1H), 4,86 (d, J=7,9 Hz, 1H), 4,74 (d, J=7,9 Hz, 1H), 4,68-4,52 (m, 4H), 4,46 (dt, J=11,3, 6,0 Hz, 1H), 3,90 (s largo, 2H), 3,78 (d largo, J=4,6 Hz, 1H), 3,40 (s largo, 3H), 2,41-2,21 (m, 3H), 2,21-1,95 (m, 13H), 1,93-1,77 (m, 5H), 1,61 (q, J=12,2 Hz, 2H), 1,52-1,40 (m, 1H), 1,33 (d largo, J=12,2 Hz, 24H), 1,04 (d, J=6,1 Hz, 1H).

Passaggi da 2 a 5: Tutte le equivalenze sono state calcolate sulla base del Composto 5a.

Passaggio 2: Amminazione riduttiva

5 In un reattore da 2 l contenente una miscela di Composto 5a (58,01 g, 1,0 eq, 133,8 mmol), Composto 6 (47,95 g, 1,05 eq, 140,5 mmol) e DIPEA (69,02 g, 4,0 eq, 535,2 mmol) in cloruro di metilene (DCM, 870 ml, 15 l/kg) è stato aggiunto triacetossiboroidruo di sodio (32,16 g, 1,13 eq, 151,7 mmol) e la massa di reazione risultante è stata agitata a temperatura ambiente. Dopo il completamento della reazione come secondo l'analisi mediante HPLC, è stata aggiunta lentamente acqua (580 ml, 10 l/kg) e la miscela liquida bifasica risultante è stata mantenuta sotto agitazione per 12 ore, dopodiché l'agitazione è stata fermata per permettere la separazione delle fasi. Lo strato organico inferiore è stato concentrato a 290 ml di volume residuo a pressione ridotta e nel reattore è stato caricato acetato di isopropile (IPAc, 580 ml, 10 l/kg). La miscela omogenea risultante è stata concentrata ancora a un volume residuo di 290 ml a una pressione ridotta di 200 mbar. Dopo una seconda aggiunta di IPAc (290 ml, 5 l/kg) la miscela è stata concentrata una terza volta a un volume residuo di 290 ml, ed è stato eseguito un terzo carico di IPAc (232 ml, 4 l/kg) fornendo una soluzione ricca del Composto 7 in IPAc (9 l/kg) pronta per la lavorazione nel passaggio successivo.

Passaggio 3: Scissione del gruppo di collegamento metilenico

15 Alla suddetta soluzione del Composto 7 raffreddata a 10°C è stata aggiunta una soluzione di idrossilammina acquosa al 50% in peso (11,36 g, 1,30 eq, 172,0 mmol) seguita da TFA (51,84 g, 3,4 eq, 454,6 mmol). La miscela risultante è stata scaldata a 56-57°C per 4,5 ore. Dopo il completamento della reazione come secondo l'analisi mediante HPLC, la miscela eterogenea è stata fatta raffreddare a 0°C e vi sono stati aggiunti 290 ml di NaOH acquoso 2N (580 mmol, 4,35 eq) lentamente tra 5°C e 10°C. La miscela bifasica è stata mantenuta sotto agitazione per 1 ora a 5-10°C prima di arrestare l'agitazione per permettere la separazione delle fasi. Lo strato organico superiore è stato trattato con 220 ml di K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> acquoso al 17% in peso a 5°C per 1 ora sotto agitazione e per 30 minuti senza agitazione per permettere alle fasi di separarsi. Lo strato organico superiore è stato lavato a 10°C con 232 ml di NaCl acquoso al 14% in peso (4 l/kg) per 30 minuti sotto agitazione e per 30 minuti senza agitazione per permettere la separazione delle fasi. Lo strato organico superiore è stato concentrato a un volume residuo di 290 ml (5 l/kg) a una pressione ridotta di 100 mbar dopodiché è stato aggiunto toluene (464 ml, 8 l/kg) e la miscela risultante è stata concentrata una seconda volta a 290 ml a 100 mbar e ad

una temperatura della camicia <70°C. Una seconda aggiunta di toluene (464 ml, 8 l/kg) seguita da una terza concentrazione a 5 l/kg residuo è stata eseguita nelle stesse condizioni di temperatura e di pressione, dopodiché il residuo di distillazione è stato diluito con ulteriore toluene (232 ml, 4 l/kg) a dare una soluzione anidra di toluene del Composto 8 pronta per la lavorazione nel passaggio successivo.

#### 5 Passaggio 4: Formazione dell'anello per formare il Composto 9

La soluzione in toluene ricca del Composto 8 è stata trattata con acido acetico (14,15 g, 1,75 eq 235,6 mmol) e la miscela risultante è stata scaldata sotto agitazione a 57°C per 5 ore, punto in cui la reazione era completa come indicato secondo l'analisi mediante HPLC. La miscela di reazione è stata fatta raffreddare a 25°C, dopodiché è stata aggiunta acqua (523 ml, 9 l/kg) e la miscela bifasica è stata mantenuta per 1 ora sotto agitazione e per 1 ora senza agitazione prima di trasferire lo strato acquoso ricco del Composto 9 in un nuovo reattore. Lo strato acquoso è stato miscelato con IPAc (1,16 l, 20 l/kg) a 25-30°C ed è stato aggiunto K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> acquoso al 40% in peso (149 ml, 3 eq) e la miscela bifasica è stata mantenuta sotto agitazione per 45 minuti prima di permettere la separazione delle fasi e il trasferimento del Composto 9 dallo strato acquoso allo strato organico. Lo strato organico è stato lavato con acqua (175 ml, 3 l/kg) a 25-30°C sotto agitazione prima di scartare il lavaggio acquoso a seguito della separazione delle fasi. Lo strato organico è stato concentrato a 525 ml (9 l/kg) residuo sotto una pressione di 300 mbar con la temperatura della camicia <75°C, dopodiché è stato caricato IPAc (290 ml) e distillato a 525 ml, eseguito ancora per essiccare la miscela a non più di 500 ppm di acqua residua.

#### 15 Passaggio 5: Cristallizzazione e isolamento

Il residuo di distillazione è stato diluito con IPAc (60 ml, 1 l/kg) e la temperatura è stata regolata a 60°C, ed è stato aggiunto l'1% in peso di semi del Composto 9 (580 mg) per promuovere la cristallizzazione. L'impasto risultante è stato fatto riposare per 2 ore a 55-60°C, dopodiché un'ulteriore cristallizzazione è stata promossa dall'aggiunta lenta di n-eptano (270 ml, 4,65 l/kg). L'impasto è stato raffreddato a 20°C in almeno 2 ore, agitato per diverse ore prima che i solidi venissero raccolti mediante filtrazione, lavati una volta con IPAc/n-eptano 35/65 v/v (4,5 l/kg) e una volta con n-eptano (7,5 l/kg). La parte solida del filtrato è stata fatta essiccare sottovuoto a 60°C a dare il Composto 9 come solido bianco (45,87 g, resa del 76,2%).

Analisi mediante HPLC:

BnOH: 0,1 PA (5,33 min); Composto 9, benzil ((S)-1-((1S,2R,4R)-2-acetammido-4-(tert-butilammino)cicloesil)-2-ossopirrolidin-3-il)carbammato: 99,5 PA (6,91 min); impurezza non identificata I: 0,3 PA (7,63 min); impurezza non identificata II: 0,2 PA (9,86 min).

5

Colonna: YMC ProC18 5  $\mu$ m 4,6 x 50 mm

Solvente A: TFA allo 0,05% in CH<sub>3</sub>CN:acqua (5:95)

Solvente B: TFA allo 0,05% in CH<sub>3</sub>CN

Gradiente: % di B: 0 minuti 0%; 8 minuti 25%; 15 minuti 100%

Velocità di flusso: 1,0 ml/min

10

Lunghezza d'onda: 205 nm

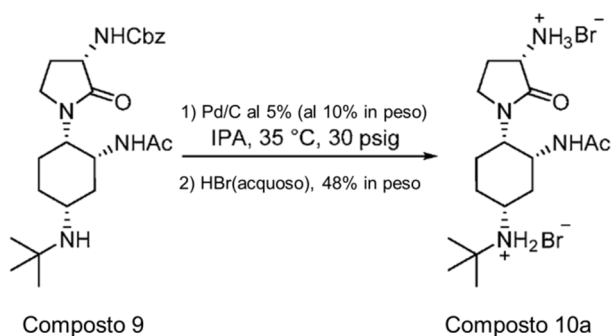
<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  9,35 (s largo, 1H), 7,37-7,26 (m, 5H), 6,00 (d largo, J=7,1 Hz, 1H), 5,10 (s, 2H), 4,56 (s largo, 1H), 4,31 (q, J=7,4 Hz, 1H), 3,93 (d largo, J=11,6 Hz, 1H), 3,36 (t largo, J=6,6 Hz, 2H), 3,15 (t largo, J=3,0 Hz, 1H), 2,47-2,31 (m, 1H), 2,12-1,99 (m, 1H), 1,91 (s, 3H), 1,87-1,57 (m, 6H), 1,12 (s, 9H) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  172,22, 169,57, 156,60, 136,65, 128,36, 127,94, 127,83, 83,64, 66,60, 53,66, 52,99, 51,61, 47,81, 45,89, 42,91, 34,32, 33,59, 29,66, 28,32, 23,81, 19,86 ppm.

15

Esempio 4

Preparazione del Composto 10a



Tutte le equivalenze sono state calcolate sulla base del benzil ((S)-1-((1S,2R,4R)-2-acetammido-4-(tert-butilammino)cicloesil)-2-ossopirrolidin-3-il)carbammato (Composto 9; 10,0 g).

Passaggio 1: Reazione di idrogenazione

5 Un reattore a bomba di Parr da 300 ml è stato caricato con 7,1 kg/kg (9 l/kg) di i-PrOH, benzil ((S)-1-((1S,2R,4R)-2-acetammido-4-(tert-butilammino)cicloesil)-2-ossopirrolidin-3-il)carbammato (Composto 9; 10,0 g), e 0,05 kg/kg (5% in peso) di catalizzatore Pd/C al 5% in acqua al 50%. Il recipiente è stato quindi sigillato e reso inerte. La sequenza di pressurizzazione a 30 psig con N<sub>2</sub>, quindi sfiato a 8 psig, è stata ripetuta per tre volte. L'atmosfera è stata modificata a idrogeno eseguendo la sequenza di pressurizzazione a 30 psig con H<sub>2</sub>, quindi sfiato a 8 psig, per tre volte. La pressione è stata regolata a 30 psig, e regolata per mantenere una pressione costante per tutto il corso della reazione. 10 La camicia è stata regolata per riscaldare la miscela di reazione a 35°C. L'agitazione è stata regolata in modo tale che kLa >0,02 s<sup>-1</sup>. La miscela è stata mantenuta sotto agitazione a 35°C e 30 psig per 3-5 ore. Il recipiente è stato scaricato, quindi spurgato con N<sub>2</sub> mediante pressurizzazione a 30 psig e sfiato del recipiente a 8 psig per tre volte. L'analisi mediante HPLC ha mostrato <0,30 RAP del materiale di partenza.

Passaggio 2: Lavorazione della reazione

15 La miscela di reazione è stata filtrata attraverso un filtro da 0,5 µm, quindi un filtro a cartuccia Cuno da 0,2 µm e risciacquata con 2-propanolo (2 l/kg) in un reattore pulito.

Passaggio 3: Cristallizzazione

20 Un recipiente è stato caricato con 7,9 kg/kg (10 l/kg) di i-PrOH, scaldato a 50°C in atmosfera inerte, seguito da HBr 0,95 kg/kg (2,5 mol/mol; 48% in peso, acquoso). 1,88 kg/kg (18% in peso del flusso totale del procedimento) contenenti il Composto 10 come base libera sono stati aggiunti alla soluzione di HBr e fatti riposare per 1-3 ore a 45-50°C. 8,54 kg/kg (82% in peso del flusso totale del procedimento) del flusso del procedimento della base libera sono stati caricati nel corso di un periodo di 1 ora, la soluzione è stata fatta riposare a 50°C per 1 ora e quindi raffreddata a 20°C nel corso di 1 ora. L'impasto è stato filtrato e il reattore è stato risciacquato con 3 l/kg di i-PrOH. Il residuo solido è stato quindi lavato con il risciacquo del reattore. Il residuo solido è stato lavato per due volte con 2-propanolo (3 l/kg). Il residuo 25 solido umido è stato fatto essiccare in una stufa sottovuoto a 70°C sottovuoto per 24 ore. Il prodotto (S)-1-((1S,2R,4R)-

2-acetammido-4-(tert-butilammonio)cicloesil)-2-ossopirrolidin-3-amminio bromuro (Composto 10a) è stato isolato come polvere solida bianca (resa dell'86%).

Analisi mediante HPLC:

5 Alcol benzilico: <0,20 PA (3,7 min); N-((1R,2S,5R)-2-((S)-3-ammino-2-ossopirrolidin-1-il)-5-(tert-butilammio)cicloesil)acetammide (Composto 9): >99,60 PA (4,7 min); benzil ((S)-1-((1S,2R,4R)-2-acetammido-4-(tert-butilammio)cicloesil)-2-ossopirrolidin-3-il)carbammato (Composto 8): <0,20 PA (13,3 min).

Colonna: Waters XBridge Phenyl, 3,5  $\mu$ m, 4,6 x 150 mm

Solvente A: acqua:MeCN:MeOH (90:8:2 + NH<sub>4</sub>OH allo 0,05%)

Solvente B: MeCN:MeOH (80:20 + NH<sub>4</sub>OH allo 0,05%)

10 Gradiente: % di B: 0 minuti 22%; 20 minuti 55%; 25 minuti 90%; 30 minuti 22%; 35 minuti 22%; tempo di arresto = 35 minuti

Velocità di flusso: 1 ml/min

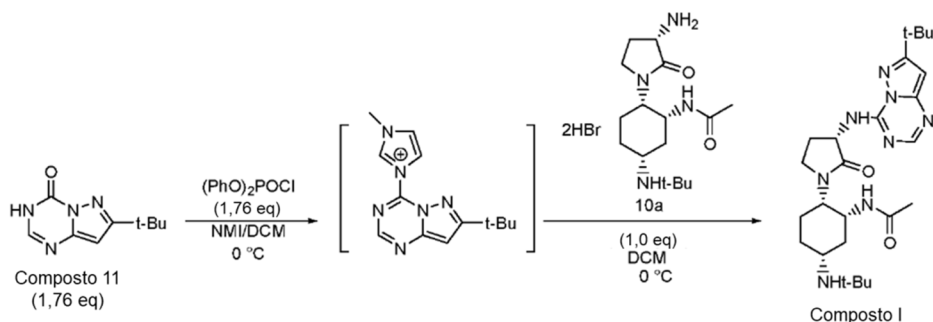
Lunghezza d'onda: 220 e 205 nm

Volume di iniezione: 10  $\mu$ l

15 Temperatura della colonna: ambiente

<sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  8,39 (s largo, 5H), 7,80 (d, J=8,6 Hz, 1H), 4,23-4,06 (m, 2H), 3,95 (t, J=9,2 Hz, 1H), 3,87 (t largo, J=8,6 Hz, 1H), 3,67-3,51 (m, 2H), 2,45-2,32 (m, 1H), 2,15 (dq, J=12,4, 9,0 Hz, 1H), 2,02-1,67 (m, 9H), 1,45-1,28 (m, 9H); <sup>13</sup>C-NMR (101 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>)  $\delta$  170,5, 168,9, 57,8, 51,0, 49,8, 47,5, 47,2, 45,2, 32,7, 26,5, 26,0, 24,8, 23,6, 22,7.

20 Esempio 5



### Esempio 5

#### Preparazione del Composto I

##### Passaggio 1: Attivazione del Composto 11

- 5 Il Composto 11 (7,16 g, 1,76 eq), 1-metilimidazolo (66 ml) e diclorometano (DCM, 44 ml) sono stati caricati in un reattore dotato di camicia provvisto di agitazione meccanica. La temperatura della camicia è stata regolata a 0°C. È stato aggiunto difenil fosforil cloruro (1,76 eq, 7,75 ml) goccia a goccia a una velocità tale che la temperatura del lotto venisse mantenuta <5°C. La miscela di reazione è stata fatta riposare per ~20 ore a 0°C e sottoposta a campionatura (25 µl in 10 ml di MeOH anidro) per il completamento della reazione.

##### 10 Passaggio 2: Reazione di accoppiamento

Il flusso del procedimento nel passaggio 1 è stato diluito con DCM (25 ml), il Composto 10a (1,0 eq, 10,0 g) è stato aggiunto alla miscela di reazione a 0°C, seguito da un secondo carico di DCM (25 ml) e il flusso del procedimento è stato fatto riposare per 5-20 ore.

##### Passaggio 3: Lavorazione

- 15 La miscela di reazione è stata diluita con DCM (60 ml) e quindi spenta mediante l'aggiunta lenta di una soluzione di acido citrico monoidrato (57,4 g) in acqua (77,6 ml) al flusso del procedimento, cui è seguita l'aggiunta di una soluzione acquosa satura di NaCl (26% in peso in acqua, 82,5 ml). Dopo la miscelazione, le fasi sono state separate, lo strato in DCM ricco del prodotto è stato lavato con una soluzione di NaOH (10 eq) disciolto in acqua (150 ml); le fasi sono state

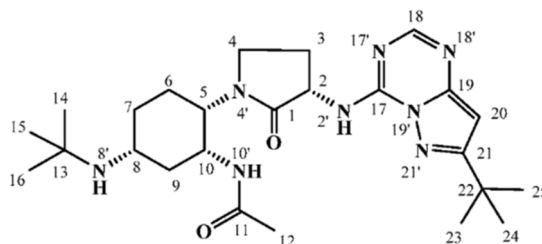
miscelate, separate, e lo strato in DCM ricco di prodotto è stato estratto con HCl in acqua (5 eq in 150 ml di acqua). Le fasi sono state separate; lo strato organico è stato eliminato, e la fase acquosa ricca di prodotto è stata trattata con DCM (150 ml) e con NaOH (6 eq), gli strati sono stati miscelati e quindi separati. Lo strato in DCM ricco di prodotto è stato lavato con acqua (50 ml).

#### 5 Passaggio 4: Distillazione-Raffinazione per filtrazione

Il flusso del procedimento in DCM ricco di prodotto umido è stato sottoposto a raffinazione per filtrazione in un reattore, concentrato mediante distillazione sottovuoto (300 mbar, camicia 30°C) a 5 l/kg, quindi è stato effettuato uno scambio di solvente a volume costante a 2-metil THF (9 l/kg), mantenendo il volume a 5 l/kg. Quando la distillazione era completa, sono stati aggiunti 7 l/kg di 2-metil THF. La distillazione e lo scambio di solvente sono stati completi quando KF (<0,1% in peso) e il livello di DCM residuo (<3% in peso di DCM) hanno soddisfatto le indicazioni.

#### Passaggio 5: Cristallizzazione-isolamento

Il lotto è stato scaldato a 60°C finché i solidi non si fossero disciolti, e la reazione è stata fatta raffreddare a 40°C. La reazione è stata caricata con il Composto I all'1% in peso e fatta riposare per 2 ore. Il lotto è stato raffreddato a 20°C nel corso di un periodo di 2 ore, ed è stato caricato n-eptano (23 l/kg) nel corso di un periodo di 2 ore. L'impasto è stato fatto riposare per una notte, filtrato, e il reattore e il residuo solido sono stati lavati con 5 l/kg di 2-metil THF rispetto a n-eptano 40:60 (p/p). Il residuo solido è stato lavato per due volte con n-eptano 5 l/kg e quindi fatto essiccare sottovuoto a 60°C. Il prodotto finale, il Composto I, è stato isolato come solido bianco (resa dell'80%).



Composto I

Il sistema di numerazione mostrato sopra è solo per convenienza e può non essere corrispondente alla nomenclatura IUPAC.

Assegnazioni di $^1\text{H}$ NMR del Composto I			
Assegnazione	Spostamento chimico <sup>a,b</sup>	Molteplicità <sup>c</sup> , J Hz	Numero di protoni
2	4,86	t, 8,9	1
3	2,36	m	1
	2,05	m	1
4	3,48	m	2
5	3,84	m	1
6	2,12	m	1
	1,58	m	1
7	1,64	m	2
8	2,93	s largo	1
9	1,58	m	2
10	4,26	s largo	1
12	1,81	s	3
14, 15, 16	1,04	s	9
18	8,07	s	1
20	6,39	s	1
24, 25, 26	1,34	s	9
10'	8,94	s largo	1

(a)  $\delta$  ppm, rispetto al protone residuo nel solvente DMSO- $d_6$  a 2,49 ppm  
(b) Il singoletto molto largo a  $\delta$  8,35 è da H-2' o H-8'. Uno di questi protoni non è stato osservato.  
(c) s = singoletto, d = doppietto, m = multipletto, br = ampio

Assegnazioni di  $^{13}\text{C}$  NMR del Composto I

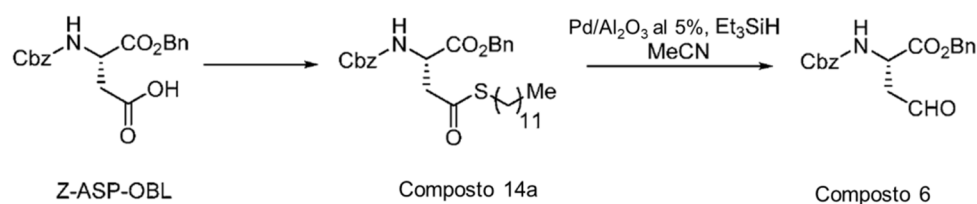
Assegnazione	Spostamento chimico <sup>a</sup>	Molteplicità <sup>b</sup>
1	171,2	C
2	51,7	CH
3	25,9	CH <sub>2</sub>
4	43,1	CH <sub>2</sub>
5	52,5	CH
6	21,3	CH <sub>2</sub>
7	32,2	CH <sub>2</sub>
8	46,5	CH
9	35,5	CH <sub>2</sub>
10	47,7	CH
11	168,5	C
12	23,3	CH <sub>3</sub>
13	50,7	C
14, 15, 16	29,3	CH <sub>3</sub>
17	148,8 <sup>c</sup>	C
18	152,9	CH
19	148,7 <sup>c</sup>	C
20	92,3	CH
21	167,3	C
22	32,6	C
23, 24, 25	30,0	CH <sub>3</sub>
(a) $\delta$ ppm, rispetto a DMSO-d <sub>6</sub> a 39,5 ppm		

(b) La molteplicità è stata ottenuta dallo spettro DEPT-135

(c) Le assegnazioni possono essere invertite

#### Esempio 6

#### Preparazione del Composto 6



#### Passaggio 1 Preparazione del Composto 14a

5 1-Metilimidazolo puro (3,0 eq) è stato aggiunto a una soluzione incolore limpida raffreddata con ghiaccio di TCFH (1,25 eq) in acetonitrile (10 ml/g Z-ASP-OBL). Il raffreddamento è stato interrotto e la soluzione limpida risultante è stata lasciata riscaldare a 20°C. Z-ASP-OBL solido (1,0 eq) è stato aggiunto alla soluzione tenuta sotto agitazione in una singola porzione, e la soluzione limpida da incolore a giallo pallido risultante è stata mantenuta sotto agitazione a 20°C per 1 ora. 1-Dodecantiolo puro (1,05 eq) è stato aggiunto in una singola porzione e la miscela di reazione è stata  
10 mantenuta sotto agitazione fino al completamento, come giudicato dall'HPLC. La miscela di reazione è stata fatta raffreddare a una temperatura interna di 12°C ed è stata aggiunta acqua (Z-ASP-OBL 0,02 ml/g). La sospensione fine è stata mantenuta sotto agitazione per 1-2 ore, quindi è stata aggiunta una soluzione di acetonitrile-acqua 50/50 (Z-ASP-OBL 10 ml/g) alla miscela di reazione, risultando in una sospensione densa di solido bianco. La sospensione è stata  
15 mantenuta sotto agitazione a 12°C per 2 ore, quindi il prodotto solido è stato raccolto mediante filtrazione, lavato con acetonitrile-acqua 50/50 e fatto essiccare in una stufa da essiccamento a dare il composto 14a come solido bianco con una resa dell'85%.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, cloroformio-d) δ 7,39-7,26 (m, 10H), 5,72 (d largo, J=8,2 Hz, 1H), 5,21-5,07 (m, 4H), 4,65 (dt, J=8,2, 4,4 Hz, 1H), 3,30-3,06 (m, 2H), 2,83 (t, J=7,5 Hz, 2H), 1,63 (s largo, 1H), 1,51 (quin, J=7,3 Hz, 2H), 1,37-1,20 (m, 19H), 0,88 (t, J=6,9 Hz, 3H)

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, cloroformio-d) δ 196,9, 170,4, 155,9, 136,2, 135,2, 128,6, 128,5, 128,4, 128,3, 128,2, 128,1, 67,6, 67,1, 50,9, 45,2, 31,9, 29,6, 29,5, 29,2, 29,2, 22,7, 14,1

#### Passaggio 2 Preparazione del Composto 6

5 Pd/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> solido al 5% (4% in peso rispetto al Composto 14a) è stato caricato in un pallone di reazione in atmosfera di azoto. In un pallone separato, il Composto 14a (reagente limitante, 1,0 eq) è stato combinato con acetonitrile (3,7 ml/g rispetto al Composto 14a) e la miscela è stata mantenuta sotto agitazione finché non fosse risultata una soluzione omogenea. La soluzione è stata spruzzata mediante gorgogliamento di N<sub>2</sub> attraverso la soluzione per 15 minuti a temperatura ambiente. La soluzione è stata aggiunta al catalizzatore nel pallone e la miscela è stata mantenuta sotto agitazione a temperatura ambiente (22-23°C). Trietilsilano puro (1,15 eq) è stato aggiunto goccia a goccia alla miscela  
10 nel corso di 5 minuti e la miscela di reazione è stata mantenuta sotto agitazione finché il Composto 14a non fosse stato consumato come giudicato dall'analisi mediante HPLC. Il catalizzatore è stato quindi rimosso mediante filtrazione e il letto del catalizzatore è stato lavato con acetonitrile 1 ml/g. Il filtrato è stato quindi estratto due volte con n-eptano (4 ml/g).

15 In un pallone separato, bisolfito di sodio (Composto 14a 0,48 g/g) è stato combinato con acqua (Composto 14a 6,0 ml/g) e la miscela è stata mantenuta sotto agitazione finché non fosse risultata una soluzione omogenea. Il flusso dei prodotti è stato diluito con metil tert-butil etere (4,0 ml/g), e la soluzione di bisolfito di sodio è stata aggiunta alla soluzione del prodotto, e la miscela bifasica è stata agitata vigorosamente finché il Composto 6 non fosse più rilevato nella fase organica. Le fasi sono state separate e il flusso di prodotto acquoso è stato estratto altre due volte con metil tert-butil etere (Composto 14a 4,0 ml/g). La soluzione acquosa del prodotto è stata raffreddata a 5°C.

20 In un pallone separato, idrogenofosfato di disodio (Composto 14a 0,2 g/g) e fosfato monosodico (Composto 14a 0,16 g/g) sono stati disciolti in acqua (Composto 14a 1,0 ml/g). Questa soluzione è stata aggiunta alla soluzione acquosa del prodotto a 5°C in modo tale che la temperatura interna rimanesse inferiore a 10°C. È stato aggiunto metil tert-butil etere (Composto 14a 10 ml/g) e la miscela bifasica è stata agitata vigorosamente. Una soluzione commerciale di formaldeide al 37% in peso (Composto 14a 0,6 g/g) è stata quindi aggiunta alla miscela bifasica a 5°C. La miscela di  
25 reazione è stata agitata a 5°C finché l'addotto di bisolfito del Composto 6 non fosse più rilevato nella fase acquosa

5 mediante HPLC. Le fasi sono state separate e il flusso di prodotto organico è stato lavato con una soluzione di cloruro di sodio acquoso al 5% (Composto 14a 3,0 ml/g) per due volte. La fase del prodotto organica è stata concentrata a un volume finale di 2,0 ml/g di Composto 14a. È stato aggiunto n-eptano (Composto 14a 8,0 ml/g) alla soluzione del prodotto a 20°C in MTBE per far cristallizzare il prodotto. Il Composto 6 solido è stato raccolto mediante filtrazione e lavato con n-eptano (2,0 ml/g). Il solido è stato fatto essiccare a 40°C. La resa del prodotto isolato è stata del 65%.

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, cloroformio-d) δ 9,68 (s, 1H), 7,43-7,24 (m, 11H), 5,71 (d largo, J=7,9 Hz, 1H), 5,27-5,01 (m, 4H), 4,68 (dt, J=8,2, 4,4 Hz, 1H), 3,17-3,08 (m, 1H), 3,07-2,98 (m, 1H).

<sup>13</sup>C-NMR (126 MHz, cloroformio-d) δ 199,1, 170,5, 155,9, 136,1, 135,0, 128,6, 128,6, 128,3, 128,2, 128,1, 67,7, 67,2, 49,2, 45,8.

#### 10 Preparazione del Composto 6 - Procedura alternativa

Il Composto 14a (13,48 g, 24,88 mmol, 100,0% in peso) è stato disciolto in acetonitrile (50 ml, 252 mmol, 99,9% in peso) in un pallone a collo singolo a fondo tondo da 250 ml.

15 Pd/C al 5% solido (651 mg, 0,30586 mmol, 5% in peso) è stato caricato in un recipiente di acciaio inossidabile per idrogenazione da 100 ml e il recipiente è stato sigillato. La soluzione del Composto 14a preparato è stata caricata nel recipiente sotto azoto. Trietilsilano puro (8,2 ml, 50 mmol, 99% in peso) è stato aggiunto nel corso di 1 minuto sotto azoto, quindi il recipiente è stato sigillato. La reazione è stata lasciata sotto agitazione per 4 ore.

La miscela di reazione è stata rimossa dal reattore e filtrata attraverso un filtro di PTFE da 0,45 µm. Il solido nel filtro è stato risciacquato con acetonitrile (25 ml, 126 mmol, 99,9% in peso). Il filtrato combinato era bifasico, avendo una fase di colore scuro che si è depositata nella parte inferiore del pallone.

20 Il flusso di prodotti bifasico è stato miscelato bene e sono stati aggiunti 55 ml di eptano. La camicia è stata regolata a 20°C e la miscela bifasica è stata agitata per 15 minuti. Le fasi sono state lasciate separare e la fase di acetonitrile inferiore era limpida e incolore. La fase superiore era di color arancione bruciato scuro.

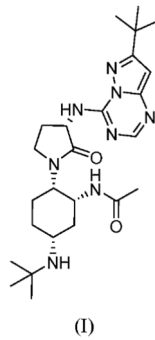
25 La pressione è stata ridotta a 60 torr e la distillazione è cominciata immediatamente. La temperatura interna è diminuita a 13-14°C, così la temperatura della camicia è stata aumentata a 25°C. Dopo il raggiungimento del punto di riferimento di 21 ml, sono stati aggiunti 50 ml di toluene mediante trasferimento sottovuoto. La pressione è stata ridotta

5 a 25 torr; la temperatura della camicia è stata regolata a 35°C e la temperatura interna è iniziata a 11-12°C. La temperatura interna è stata aumentata a 29,5°C. Una volta che la distillazione era completa, la camicia è stata regolata a 40°C ed è stato aggiunto cicloesano (21 ml, 194 mmol, 99,9% in peso). Il Composto 6 solido (100 mg, 0,2783 mmol, 95,00% in peso) è stato aggiunto in una singola porzione. Il lotto è stato mantenuto alla temperatura della camicia di 40°C per 1 ora, quindi raffreddato a 20°C nel corso di 2 ore e mantenuto a 20°C per una notte.

10 La miscela era una sospensione di solido bianco. Alla sospensione è stato aggiunto cicloesano puro (21 ml, 194 mmol, 99,9% in peso) attraverso una pompa a siringa nel corso di 2 ore e la sospensione è stata mantenuta sotto agitazione per 5 ore a 20°C. Il prodotto solido è stato raccolto su una carta da filtro Whatman# 1 da 55 mm. L'acqua madre è stata riciclata al risciacquo fuori dal reattore, quindi il residuo solido è stato lavato con 20 ml di cicloesano. Il residuo solido è stato fatto essiccare all'aria per 15 minuti, prima del trasferimento in un forno per essiccamento a 20°C per l'essiccamento nel corso di un fine settimana a dare 5,6 g, resa del 62,7% del Composto 6.

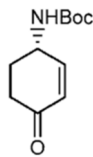
Rivendicazioni

1. Un procedimento per la preparazione del Composto I di formula



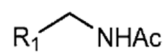
comprendente i passaggi di

- 5 a) far reagire il Composto 1 di formula



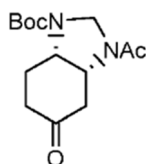
Composto 1

con il Composto 2 di formula generale



Composto 2

dove R<sub>1</sub> è un gruppo uscente e con un acido, in un solvente adatto a dare il Composto 3 di formula

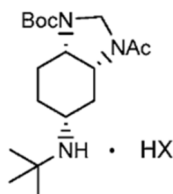


Composto 3

b) far reagire il Composto 3 in una reazione di amminazione riduttiva con un'ammina primaria o secondaria ( $\text{HNR}_2\text{R}_3$ ) dove

$\text{R}_2$  e  $\text{R}_3$  sono idrogeno o  $\text{C}_1$ - $\text{C}_6$  alchile;

5 mediata da un acido di Lewis cui segue la reazione con un donatore di idruro adatto o una combinazione di un catalizzatore e idrogeno gassoso, a dare il Composto 4 di formula

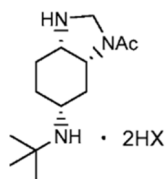


Composto 4

in cui X è un controione inorganico o organico;

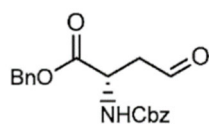
c) successivamente far reagire il sale del Composto 4 con  $i\text{-PrOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$  o renderlo una base libera prima con

10 NaOH e quindi con una miscela appropriata di acido/solvente, a dare il Composto 5 di formula



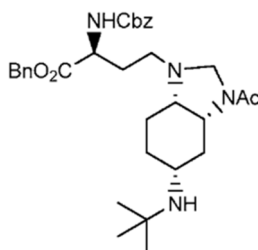
Composto 5

d) far reagire il Composto 5, o un suo sale, in un'amminazione riduttiva, in un solvente appropriato e utilizzando una fonte di idruro, con il Composto 6 di formula



Composto 6

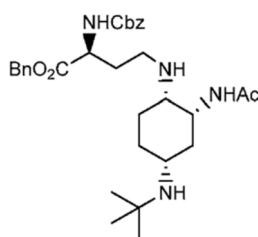
a dare il Composto 7 di formula,



Composto 7

5

e) che viene quindi fatto reagire con un acido, in presenza di  $\text{NH}_2\text{OH}$ , o suo sale, e un solvente adatto a dare il Composto 8 di formula



Composto 8

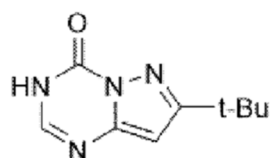
10

f) che viene fatto reagire ulteriormente con un acido, una base, e scaldato a  $45-70^\circ\text{C}$  in un solvente o in una miscela di solventi appropriati a dare il Composto 9 di formula



4. Procedimento secondo la Rivendicazione 3 in cui l'acido è acido metansolfonico (MSA) o acido canforsolfonico (CSA).
5. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui l'acido nel passaggio a) è un acido di Lewis.
6. Procedimento secondo la Rivendicazione 5 in cui l'acido di Lewis è LiX, in cui X è alogeno, o BF<sub>3</sub>-eterato.
- 5 7. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il solvente nel passaggio a) è DCM, DCE, CHCl<sub>3</sub>, CCl<sub>4</sub>, etere dietilico, THF, metil t-butil etere o altri solventi eteri o una loro miscela.
8. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il Composto 4 è la base libera.
9. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui Composto 4 è il sale d'ammonio.
10. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui la miscela di acido/solvente nel passaggio c) è MSA/DCM in un rapporto di 1:21,4, o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/IPA in un rapporto di 1:588.
11. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il sale con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> viene formato nel passaggio c).
12. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui la fonte di idruro nel passaggio d) è triacetossiboroidruro.
13. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui l'acido nel passaggio e) è TFA e il solvente è toluene.
14. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui NH<sub>2</sub>OH viene utilizzato nel passaggio e).
- 15 15. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il Composto 8 viene fatto reagire con un acido o con una base.
16. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il Composto 8 viene scaldato a 45-70°C in un solvente/una miscela di solventi dove i solventi sono toluene, acetato di isopropile, n-eptano, NMP, DMF, etere dietilico, THF, metil t-butil etere o altri solventi eteri.
17. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il Composto 9 viene cristallizzato da una miscela di solventi di acetato di isopropile/n-eptano.
- 20 18. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui l'amminazione riduttiva nel passaggio b) utilizza Pd/C in MeOH o Pt/Al in THF con idrogeno gassoso e l'amminazione riduttiva nel passaggio d) utilizza triacetossiboroidruro di sodio.
19. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il sale con HBr del Composto 10 viene formato nel passaggio
- 25 g).

20. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il Composto 11 nel passaggio h) viene attivato con 1-metilimidazolo e difenil fosforil cloruro a dare il Composto 11a

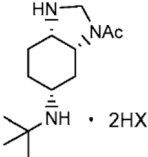
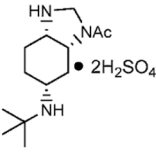
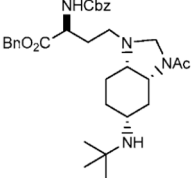
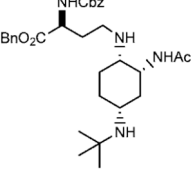


(Composto 11)

21. Procedimento secondo la Rivendicazione 1 in cui il Composto I nel passaggio h) viene cristallizzato da una miscela di solventi di 2-MeTHF ed n-eptano.

22. Un composto come mostrato nella tabella sotto;

Composto No.	Struttura
3	
4	
4a	

5	
5a	
7	
8	

Il sottoscritto dichiara che la presente traduzione è conforme al testo originale.



Dott.ssa Tiziana SANTORO (USBM-CPI-072 BM)