

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 909 948**

21 Número de solicitud: 202130729

51 Int. Cl.:

**C07C 229/24** (2006.01)

**C07B 57/00** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

**27.07.2021**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**10.05.2022**

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

**27.07.2022**

Fecha de concesión:

**09.02.2023**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**16.02.2023**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
(100.0%)**

**Avenida de Séneca, 2  
28040 Madrid (Madrid) ES**

72 Inventor/es:

**VIEDMA MOLERO, Cristóbal**

54 Título: **Desracemización de compuestos racémicos por *Viedma ripening* y fluctuación de temperatura**

57 Resumen:

Desracemización de compuestos racémicos por *Viedma ripening* y fluctuación de temperatura.

La invención se refiere a un proceso que permite obtener compuestos enantioméricamente puros a partir de compuestos racémicos, de especial interés en la industria farmacéutica. Métodos conocidos, como *Viedma ripening* y fluctuación de temperatura, son aplicables con eficacia a los "conglomerados" (10% de los compuestos quirales) pero la desracemización de "compuestos racémicos" (90% de los compuestos quirales) es un gran desafío; sobre todo, su aplicación en principales moléculas biológicas quirales como los aminoácidos.

Se describe un proceso nuevo de desracemización (obtención de pureza quiral) aplicable a compuestos racémicos combinando fundamentos que operan en las técnicas del *Viedma ripening* y la fluctuación de temperatura. Se genera un fenómeno cinético que se contrapone a las restricciones termodinámicas, lo que permite la desracemización de los compuestos racémicos eligiendo el disolvente, el agente racemizante y el gradiente de temperatura apropiado para cada caso.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 41 LP 24/2015.

Dentro de los seis meses siguientes a la publicación de la concesión en el Boletín Oficial de la Propiedad Industrial cualquier persona podrá oponerse a la concesión. La oposición deberá dirigirse a la OEPM en escrito motivado y previo pago de la tasa correspondiente (art. 43 LP 24/2015).

ES 2 909 948 B2

## DESCRIPCIÓN

### Desracemización de compuestos racémicos por *Viedma ripening* y fluctuación de temperatura

5

#### SECTOR DE LA TÉCNICA

La presente invención se refiere a un proceso de transformación de compuestos racémicos en el enantiómero deseado, de especial interés en la industria farmacéutica; de forma más concreta, se refiere a un proceso mediante el cual se puede conseguir la desracemización de compuestos racémicos mediante un protocolo experimental que genera las condiciones especiales para que tal desracemización tenga lugar.

#### ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

15

El origen de la homoquiralidad biológica sigue siendo una de las cuestiones más fascinantes por resolver. Desde el punto de vista químico, físico y biológico, los procesos que pueden variar la simetría quiral son de particular importancia ya que, a nivel molecular, la quiralidad tiene un profundo impacto en el reconocimiento e interacción entre compuestos y, por lo tanto, es importante para la bioquímica y la farmacología (Agranat, I. y Cancer, H., *Drug Discov. Today*, **1999**, 4, 313).

20

Así, como resultado de los aspectos regulatorios, cada vez se realizan más esfuerzos para llevar medicamentos enantiopuros al mercado. En algunos casos, esto se puede lograr mediante una síntesis enantioselectiva. Sin embargo, en otros casos, esto implicaría demasiados pasos sintéticos para que el proceso sea económicamente viable ya que la síntesis de moléculas quirales en laboratorio, en condiciones no dirigidas, generan aproximadamente la misma cantidad de entidades quirales de izquierda y de derecha, es decir, una mezcla racémica de enantiómeros.

25

30

Una alternativa es la obtención de mezclas conglomeráticas racémicas y su posterior separación quiral por cristalización, ya que estos protocolos simplifican enormemente la producción de sustancias enantioméricamente puras y se pueden adaptar a la

industria farmacéutica para obtener medicamentos quirales.

Las mezclas racémicas de los compuestos quirales pueden cristalizar en dos formas:  
5 (a) como un “compuesto racémico” en que cada cristal contiene la relación 1:1 de moléculas L:D, es decir, igual cantidad de ambos enantiómeros dentro del mismo cristal; o (b) como un “conglomerado” en que cada cristal está formado por moléculas del mismo enantiómero.

En el caso de los conglomerados, al haber cristales de mano de derecha y mano  
10 izquierda, pueden ser separados físicamente como hizo Pasteur con sus “pinzas”. En los últimos años, se han desarrollado otros métodos más adecuados para la desracemización en estado sólido de los conglomerados mediante la molienda o atrición de una suspensión de ambos enantiómeros cristalinos en su disolución saturada. Así, en 2005, Viedma demostró que la molienda abrasiva continua de una  
15 suspensión racémica de cristales de conglomerado de D- y L-NaClO<sub>3</sub> podría transformar los cristales en suspensión en un estado enantiopuro (C. Viedma, *Physical Review Letters* **2005**, 94, 065504). Tres años después, se pudo extender este proceso a compuestos orgánicos intrínsecamente quirales que cristalizan como conglomerados y experimentan una rápida racemización del par de moléculas quirales dentro de la  
20 solución de la suspensión, demostrando que el proceso se puede aplicar a derivados de aminoácidos, complejos metal-orgánicos e indolinonas (Noorduyn, W. et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, 130(4), 1158-1159). Actualmente, la desracemización inducida por molienda se está explorando como una ruta práctica para producir compuestos enantioméricamente puros que se pueden utilizar en la fabricación de productos  
25 farmacéuticos.

Por otro lado, ya en 2007, los inventores sugirieron que se podía alcanzar una pureza  
quiral completa mediante un proceso de desracemización por crecimiento-disolución, mejorado por una fluctuación de temperatura (o ciclos seco-húmedo), en un sistema  
30 con una suspensión racémica en disolución de cristales conglomerados de aminoácidos o polímeros (C. Viedma, *Astrobiology* **2007**, 7 (2), 312-319). Un año después, en 2008, se publicó un primer ejemplo de la evolución del total enriquecimiento de la fase sólida para el conglomerado de un aminoácido mediado por

racemización en fase de solución por un fuerte gradiente de temperatura, en ausencia de molienda (C. Viedma et al. *J. Am. Chem.Soc.* **2008**, 130, 15274-15275). Posteriormente (C. Viedma, P. Cintas, *Chemical Communications* **2011**, 47, 12786-12788), se mostró la desracemización total por fluctuación de temperatura o ciclos de temperatura en una suspensión de un conglomerado de NaClO<sub>3</sub>, estableciendo una diferencia de 14°C entre la parte inferior y la parte superior de un matraz e iniciando un proceso de disolución-crecimiento de los cristales que, finalmente, generó un sistema homoquiral (Figura 1); se observó que la homogeneización de la temperatura en el matraz por fuerte agitación produjo la desaparición del fenómeno de la desracemización, demostrando que la fuerza impulsora del proceso de desracemización era la fluctuación o ciclos de temperatura y, por tanto, esta fluctuación de temperatura es una alternativa eficiente a la tradicional desracemización por desgaste. Finalmente, también se ha reportado un ejemplo del efecto de las fluctuaciones de temperatura para conglomerados, utilizando ciclos de calentamiento-enfriamiento, en la desracemización en disolución de 1-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-3-pentanol (K. Suwannasang, et al. *Cryst. Growth Des.* 2013, 13, 3498–3504).

Aunque los dos métodos de desracemización descritos, *Viedma ripening* y fluctuación de temperatura, son prometedores para su aplicación práctica (especialmente en la industria farmacéutica) tienen el inconveniente intrínseco de ser solamente aplicables a los conglomerados (los dos enantiómeros cristalizan en cristales separados). Pero una estimación aproximada nos dice que menos del 10% de los compuestos quirales cristalizan como conglomerados. Esta restricción excluye la utilización de estos métodos de desracemización para, aproximadamente, el 90% de las moléculas quirales conocidas las cuales cristalizan como compuestos racémicos, (ambos enantiómeros cristalizan en el mismo cristal) (Jacques, J. et al., **1991**, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, Krieger Publishing Company, Florida, 447.7)

Por tanto, la desracemización de compuestos racémicos utilizando técnicas como la molienda (*Viedma ripening*) o fluctuación de temperatura constituye un gran desafío; sobre todo, su aplicación en principales moléculas biológicas quirales como los aminoácidos, donde solamente 2 de cada 20 aminoácidos proteinogénicos forman un

conglomerado.

## EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

5 La presente invención describe un proceso de desracemización aplicable a compuestos racémicos combinando adecuadamente principios que están detrás de las técnicas *Viedma ripening* y fluctuación de temperatura, lo que da lugar a un fenómeno nuevo no descrito en estas técnicas que posibilita la desracemización de los compuestos racémicos.

10

Se parte de sistemas donde cristales del compuesto racémico están presentes en suspensión junto a cristales de uno de sus enantiómeros en una solución saturada, generándose un exceso enantiomérico (ee) en la solución de la molécula común a ambos sólidos. Esto es así porque el equilibrio en la solución está controlado por la solubilidad relativa de los cristales del compuesto racémico y los cristales del enantiómero. Este exceso enantiomérico puede variar entre 0 y 100%. Pero es evidente que la composición eutéctica formada, desde un punto de vista teórico, es siempre termodinámicamente desfavorable para la desracemización del compuesto racémico por cualquiera de las dos técnicas mencionadas, *Viedma ripening* o la fluctuación de temperatura. Esto es así porque en un medio racemizante el flujo de moléculas, en un proceso de disolución-crecimiento, siempre iría del enantiómero al compuesto racémico, desapareciendo finalmente el enantiómero. Por esta razón, la posibilidad de desracemización mediante estas técnicas de los compuestos racémicos no ha sido abordada.

25

Por la presente invención, se soslayan los problemas termodinámicos que impiden la desracemización del compuesto racémico mediante el aprovechamiento de aspectos cinéticos del proceso. Para ello, se hace una observación experimental crucial: se puede trastocar drásticamente el ee inicial y provocar un flujo de moléculas desde el compuesto racémico hacia el enantiómero presente, mediante el protocolo experimental de la presente invención. Se provoca una rápida incorporación de las unidades de crecimiento y la formación de núcleos a partir de la solución, lo que favorece cinéticamente la incorporación de las moléculas quirales más abundantes a

30

los cristales del enantiómero presente en la solución cuyas posiciones estructurales están formadas por esas moléculas exclusivamente. Las moléculas quirales minoritarias en disolución, que pertenecen solo al compuesto racémico, forman agrupaciones o núcleos con menor facilidad y les resulta más difícil encontrar la  
5 posición estructural adecuada en los cristales ya presentes (solo la mitad de las posiciones estructurales del compuesto racémico admite este tipo de moléculas). De este modo el ee inicial, que era desfavorable termodinámicamente, desaparece y se inicia un proceso nuevo: al estar el sistema en condiciones de disolución-crecimiento (fluctuación de temperatura), y en un medio racemizante en solución, la cinética  
10 generada vence los impedimentos termodinámicos y se posibilita el crecimiento del enantiómero presente a partir del compuesto racémico, resultando una pureza quiral, fundamento de nuestra invención.

Así pues, el proceso se basa en la formación de agrupaciones sólidas de la solución y  
15 la rápida incorporación de moléculas a los cristales generados por la fuerte fluctuación de la temperatura, lo que genera un cambio drástico en el exceso enantiomérico (ee) en el punto eutéctico de una suspensión cristalina en la que el compuesto racémico y uno de sus enantiómeros están presentes en la fase sólida. Esta alteración del ee en el punto eutéctico es la fuerza impulsora del proceso de desracemización y amplía la  
20 posibilidad de desracemización de “compuestos racémicos”, no posible hasta ahora, mediante esta invención. La abrasión continua de ambas fases ayuda al proceso, aunque no sea imprescindible, combinada con la gran sobresaturación generada en la parte más fría del matraz; y la racemización de las moléculas en solución conduce al crecimiento del enantiómero a partir del compuesto racémico.

25 Buscando el equilibrio, la fase sólida repone las moléculas de la solución constantemente y el permanente desequilibrio cinético, debido al proceso de cristalización, permite un flujo neto de moléculas del compuesto racémico al enantiómero, si el proceso de equilibrio solido-solución es más rápido que la  
30 racemización en solución. El resultado final es la conversión de los cristales del compuesto racémico, que sirve como una alimentación gradual, en cristales del enantiómero presente en el sistema, en contraste con la maduración de Viedma, en el que sólo el enantiómero opuesto sirve como alimento puesto que solo es posible

trabajar con conglomerados. Esto es así no sólo cuando la cantidad del enantiómero-racémico es la misma (1: 1), sino también cuando hay una mayor proporción para el racémico. En este último caso, el sistema avanza también hacia la homoquiralidad, aunque mucho más lentamente.

5

Una gran diferencia entre la maduración estándar de Viedma y este nuevo proceso es que, en el primer caso, los núcleos o *clústeres* se producen sólo a partir de la fase sólida, mientras que ahora esos clústeres, en nuestro protocolo experimental, emergen principalmente del seno de la solución, por lo que es posible que la molienda no sea  
10 absolutamente esencial, pero ayuda profundamente a la cinética del proceso. Es decir, cuando un compuesto es estable como compuesto racémico, la desracemización aún puede lograrse, utilizando la lucha perpetua entre termodinámica y cinética generada con nuestra invención.

15 Con este nuevo hallazgo, la desracemización de una fase sólida puede no estar restringida al 10% de moléculas quirales que cristalizan en conglomerado. Gracias a esta invención puede extenderse a diferentes compuestos racémicos. Para ello, es necesario elegir, para cada caso concreto, el disolvente apropiado, el agente de racemización y un intervalo de fluctuación de temperatura o una velocidad de  
20 enfriamiento–calentamiento determinada, bien dentro del mismo frasco con un gradiente de temperatura entre la parte alta-baja del sistema; o sometiendo el sistema a subidas y bajadas de temperatura temporales; o bien mediante un flujo de la solución entre dos frascos con diferentes temperaturas.

## 25 **BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS**

Para complementar la descripción que se está realizando y con objeto de ayudar a una mejor comprensión de las características de la invención, se acompaña como parte integrante de dicha descripción, un juego de dibujos en donde, con carácter ilustrativo  
30 y no limitativo, se ha representado lo siguiente:

Figura 1. Desracemización por fluctuación de temperatura (14°C) de una suspensión racémica del conglomerado NaClO<sub>3</sub>.

Figura 2. Comparación del exceso enantiomérico en solución de una suspensión de cristales antes del inicio de la desracemización para un conglomerado racémico (a) y un compuesto racémico (b).

5

Figura 3. Esquema del proceso de desracemización del compuesto racémico ácido aspártico (exceso enantiomérico antes del inicio del proceso de desracemización)

Figura 4. Evolución en el tiempo medida mediante técnicas cromatografías del ee en fase sólida (aumento de la pureza quiral) para el compuesto racémico ácido aspártico y un enantiómero con racemización de moléculas en solución.

10

Figura 5. Difractogramas de caracterización de la suspensión de cristales del ácido aspártico antes de la desracemización (a) en el que se pueden ver los picos correspondientes a las dos fases, conglomerado-compuesto racémico y después de la desracemización (b) en el que han desaparecido los picos correspondientes al compuesto racémico porque toda la suspensión de cristales pertenece a un único enantiómero: pureza quiral.

15

Figura 6. Evolución de tres sistemas con ambas fases, conglomerado-compuesto racémico, con resultados diferentes: (a) los dos enantiómeros están presentes en el sistema junto con el compuesto racémico, el resultado es el crecimiento del compuesto racémico a expensas de los enantiómeros, lo que prueba que termodinámicamente el compuesto racémico es la fase estable; (b) sólo el enantiómero L está presente junto con el compuesto racémico; el compuesto racémico, gracias a la cinética generada en el sistema, se transforma en el enantiómero L; (c) sólo el enantiómero D está presente junto con el compuesto racémico; gracias a la cinética generada en el sistema, este se convierte en el enantiómero D. El proceso que se genera en los sistemas (b) y (c) para transformar el compuesto racémico en los correspondientes enantiómeros es el objeto de la presente patente.

20

25

30

Figura 7. Comparación del eutéctico en sistemas sin racemización antes y después del inicio del experimento: (a) cristales del compuesto racémico del ácido aspártico

coexistiendo con una de sus enantiómeros en equilibrio con la solución donde se genera un ee de moléculas en solución del 55%; y (b) cristales del compuesto racémico del ácido aspártico coexistiendo en equilibrio con un uno de sus enantiómeros después de iniciarse el experimento (generación de un proceso de disolución crecimiento con gran supersaturación) originándose un ee de moléculas en solución próximo a 0 %.

Figura 8. Evolución de un sistema (a), en el que coexiste en equilibrio con la solución una suspensión de cristales del compuesto racémico y uno de sus enantiómeros, hacia el sistema (b), en el que todos los cristales son del enantiómero presente aun siendo este enantiómero inicialmente la fase minoritaria.

### **REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION**

La presente invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos, los cuales no pretenden ser limitativos de su alcance.

#### **Ejemplo 1. Desracemización de ácido aspártico.**

En un matraz de 25 ml conteniendo 20 ml de agua y 8 g bolas de vidrio de 3 mm de diámetro, se disuelven parcialmente y permanecen en suspensión cristales de ácido aspártico (1600 mg) y cristales de ácido aspártico L o D (1600 mg). La suspensión se agita vigorosamente (800 rpm) durante 1 -2 horas para homogeneizar el tamaño de los cristales. Después, se inicia la desracemización de la fase en disolución añadiendo 20 mg de hidróxido sódico y agitando suavemente (120 rpm). El matraz se coloca sobre un calentador que genera una diferencia de temperatura entre la parte inferior del matraz (en contacto con la placa calefactora) y la parte superior del matraz (en contacto con la atmosfera a temperatura ambiente) de, aproximadamente, 14 – 18 °C.

Esta diferencia de temperatura espacial puede también generarse de forma temporal subiendo la temperatura del matraz y bajándola alternativamente de forma drástica, o bien comunicando dos matraces en los que existe una diferencia de temperatura entre ellos ya programada.

El rango de temperatura es de gran importancia para el tiempo de desracemización. Para permitir la desracemización en pocas horas se mantiene una diferencia de temperaturas de 78°C – 60°C durante 24 horas o bien una diferencia de temperatura de entre 68°C–50°C durante 48 horas (Figura 3). Aumentando el agente de racemización, el tiempo de desracemización podría disminuir significativamente pero también dar lugar a una conversión menor porque permanece más producto en disolución.

Las muestras de sólido obtenidas se recogen y secan antes de medir la composición enantiomérica de las moléculas componentes de dicha muestra. En la Figura 4 se aprecia, mediante cromatografía quiral (HPLC), la evolución del exceso enantiomérico para la fase sólida compuesta por los cristales en suspensión del compuesto racémico y uno de los enantiómeros con racemización de las moléculas en solución. Puede apreciarse que la fase sólida evoluciona en el tiempo hacia pureza quiral: completa desracemización.

El producto sólido final se caracteriza por difracción de rayos X (XRPD). La Figura 5 muestra: (a) el difractograma de la suspensión inicial con las dos fases cristalinas ácido aspártico-L y ácido aspártico-LD y (b) el difractograma después de la desracemización (donde se observa que los picos correspondientes al compuesto racémico LD han desaparecido). Toda la fase sólida se ha convertido en el enantiómero presente en el principio del experimento: pureza quiral.

### **Ejemplo 2. Influencia de la presencia de enantiómeros.**

Se realiza el proceso de desracemización descrito en el ejemplo 1 pero con la presencia de cristales de los dos enantiómeros (L y D) en el sistema, agitando durante dos días. El sólido final se caracteriza por XRPD y se observa que corresponde al compuesto racémico. Por tanto, los dos enantiómeros se incorporan a la fase del compuesto racémico. Esto prueba que el ácido aspártico, compuesto-racémico, es la fase estable a esas temperaturas y condiciones. Sin embargo, cuando se añaden cristales de un solo enantiómero todo el sistema se transforma en la fase enantiomérica gracias a la peculiar cinética generada en nuestros sistemas, siendo esta conducta novedosa el objeto de la presente patente (Figura 6).

**Ejemplo 3. Proceso sin racemización**

- Se realiza el proceso descrito en las mismas condiciones del ejemplo 1, pero sin racemización. Para ello, se toman muestras de la disolución dos horas después de comenzar el proceso de crecimiento-disolución para medir el ee en la solución. Resulta que, sorprendentemente, se alcanza un ee próximo al 0 % mientras que al principio del proceso (en el equilibrio de ambas fases sólidas), el ee en solución era del 55 % (Figura 7).
- 10 Esto muestra que la rápida formación y crecimiento de cristales agota el exceso en la cantidad inicial de moléculas quirales más abundantes en la solución y los dos tipos de moléculas quirales (L y D) tienden a igualarse. Además, la ventaja cinética de una incorporación más fácil para las moléculas al enantiómero se mantiene debido al mayor número de posiciones equivalentes sobre la superficie de los cristales. Este
- 15 fenómeno, nunca descrito, es la fuerza impulsora del proceso de desracemización novedoso objeto de esta patente.

**Ejemplo 4. Influencia de la cantidad de la proporción inicial racémico: enantiómero.**

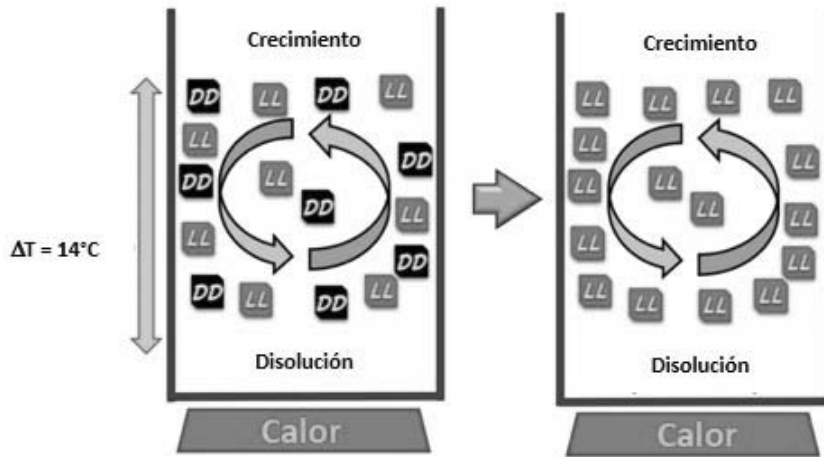
- 20 Se realiza el proceso descrito en el ejemplo 1 no solo cuando la proporción del compuesto racémico y el enantiómero es la misma (1:1) sino también aumentando la proporción del compuesto racémico sobre el enantiómero i.e. (1.5:1). Se observa que el sistema avanza hacia la homoquiralidad, pero de forma más lenta (Figura 8).

## REIVINDICACIONES

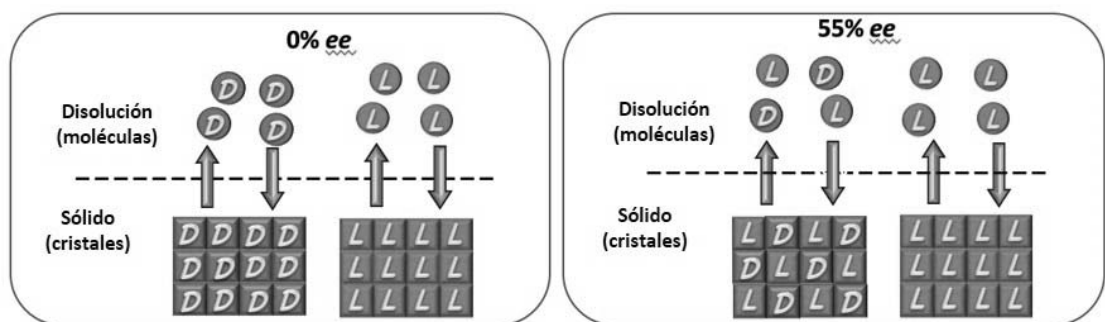
1. Proceso de desracemización de compuestos racémicos por combinación de *Viedma ripening* y fluctuación de temperatura que comprende:  
5
  - Generar un exceso enantiomérico en una solución saturada donde permanecen en suspensión cristales del compuesto racémico y uno de sus enantiómeros en equilibrio con una solución.
- 10
  - Homogeneizar el tamaño cristalino
  - Generar una fluctuación o diferencia de temperatura entre la parte inferior del recipiente donde se encuentra la solución y la parte superior del recipiente en contacto con la atmósfera.
- 15
2. Proceso de desracemización de compuestos racémicos, según reivindicaciones 1 y 2, donde la proporción compuesto racémico – enantiómero es igual o mayor que 1.
- 20
3. Proceso de desracemización de compuestos racémicos, según reivindicaciones 1 y 2, donde se añade un agente racemizante.
4. Proceso de desracemización de compuestos racémicos, según reivindicaciones 1 y 2, donde el compuesto racémico es ácido aspártico.
- 25
5. Proceso de desracemización de compuestos racémicos, según reivindicación 4, donde el disolvente es agua.
6. Proceso de desracemización de compuestos racémicos, según  
30 reivindicaciones 4 y 5, donde se realiza molienda mediante bolas de vidrio y bajo agitación.
7. Proceso de desracemización de compuestos racémicos, según reivindicaciones 3 a 6, donde se añade hidróxido sódico a la disolución del

compuesto racémico y el enantiómero y se calienta la mezcla generando una diferencia de temperatura entre la parte inferior y superior de la disolución de 14 – 18 °C.

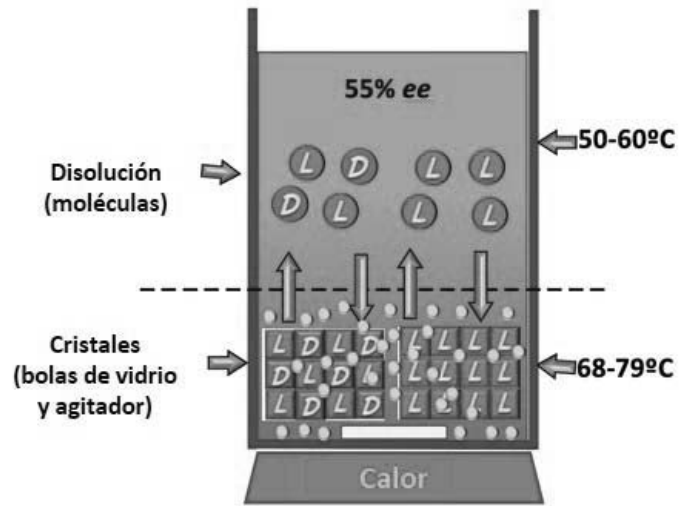
5



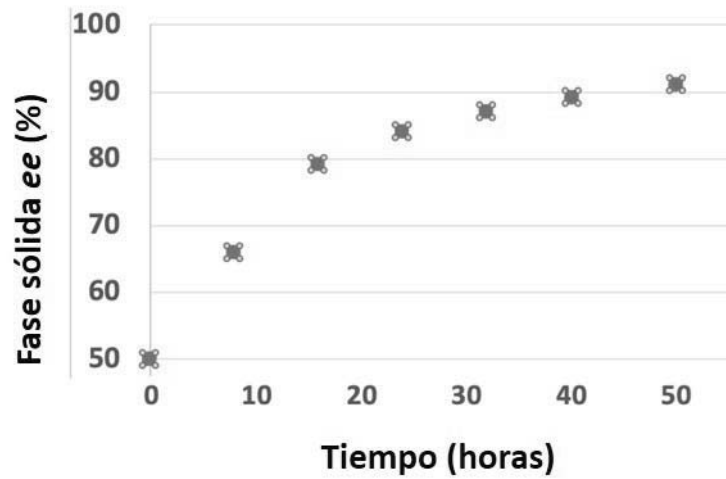
**Figura 1**



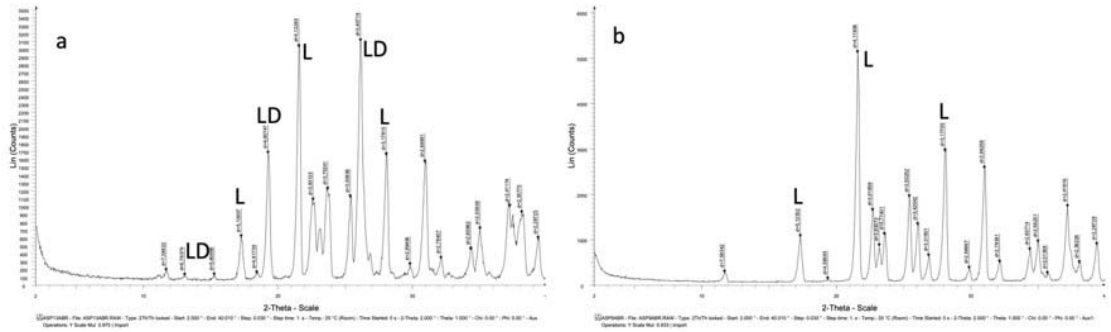
**Figura 2**



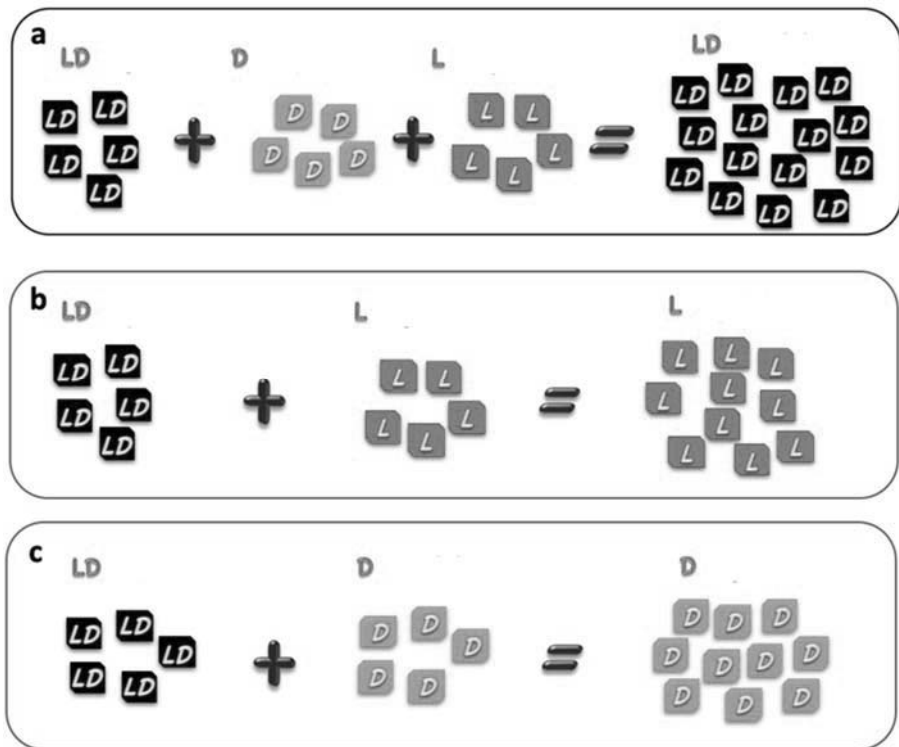
**Figura 3**



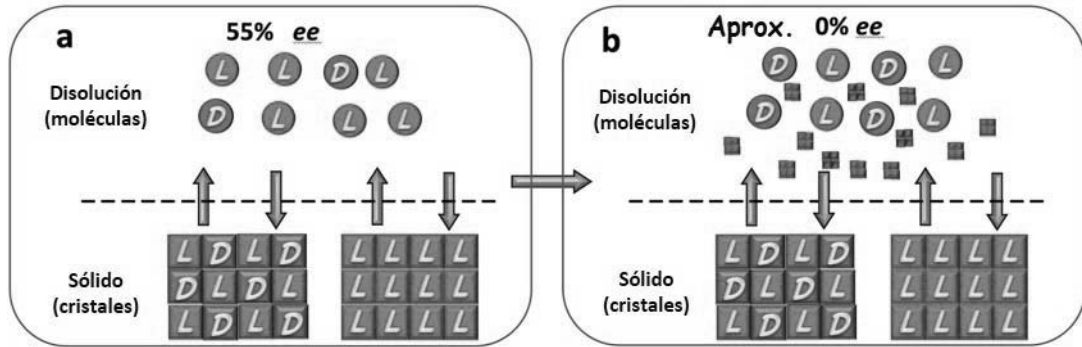
**Figura 4**



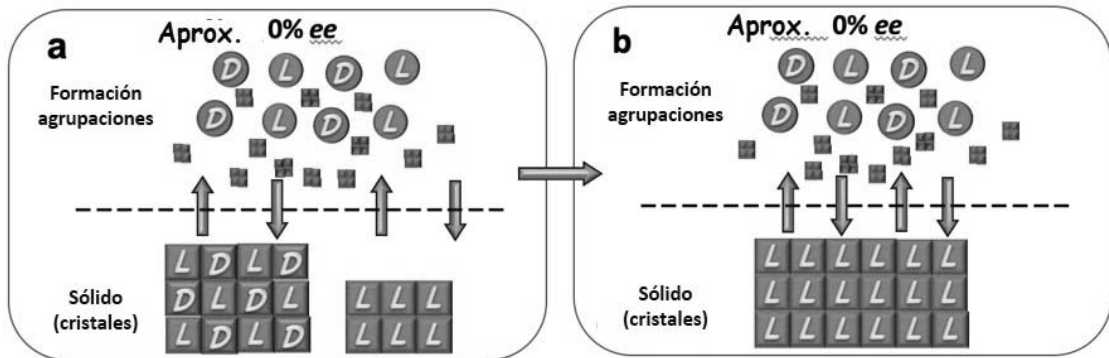
**Figura 5**



**Figura 6**



**Figura 7**



**Figura 8**